Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

RESISTENZ- UND COL-PLASMIDE BEI ENTEROBACTERIACEAE AUS FLEISCH MIT UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TEMPERATUR-ABHÄNGIGKEIT VON ÜBERTRAGUNG UND FREQUENZ DER R-PLASMIDE IM MODELLVERSUCH

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

B a r b a r a S a s s e - P a t z e r, geb. P a t z e r
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1977

Journal Nr. 863

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0087

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

RESISTENZ- UND COL-PLASMIDE BEI ENTEROBACTERIACEAE AUS FLEISCH MIT UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TEMPERATUR-ABHÄNGIGKEIT VON ÜBERTRAGUNG UND FREQUENZ DER R-PLASMIDE IM MODELLVERSUCH

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
B a r b a r a S a s s e - P a t z e r, geb. P a t z e r
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1977

Journal Nr. 863

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Vorsitzender des FBR: Prof. Dr. H.H. Frey
Referent : Prof. Dr. G. Reuter
Korreferent : Prof. Dr. E. Hellmann

Tag der Promotion: 11. Januar 1977

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

A.Einleitung 1

B.Literaturübersicht 2

1.Definition des Begriffs Resistenz 2

2.Mechanismen der Resistenzentstehung 2

I.Adaption 3

II.Genetik der Chemoresistenz 3

1.Mutation und Variantenbildung 3

2.Transformation 5

3.Transduktion 5

4.Übertragung genetischen Materials mittels Plasmiden 6

3.Vorkommen der R-Plasmide 17

I.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae bei Menschen 17

II.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae bei Tieren 19

III.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in Lebensmitteln 21

IV.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in anderen Biotopen. 32

4.R-Plasmid-Übertragung in vivo 35

I.R-Plasmid-Übertragung in vivo nach vorheriger chemotherapeutischer Be-

Seite

einflussung der Darmflora 35

II.R-Plasmid-Übertragung in vivo ohne vorherige Beeinflussung der Darmflora 37

5.Mögliche Gefährdung des Menschen durch R-Plasmid-tragende Bakterien tierischen Ursprungs

I.Die Bedeutung der pathogenen Enterobacteriaceae 39

II.Die Bedeutung der apathogenen Enterobacteriaceae 40

III.Verhalten der mit Lebensmitteln aufgenommenen resistenten Enterobacteriaceae im menschlichen Darmtrakt 40

IV.Verhalten der aufgenommenen resistenten Enterobacteriaceae im menschlichen Darmtrakt bei vorhandenem Selektionsdruck durch Chemotherapeutikaanwendung 44

C.Eigene Untersuchungen

I.Material und Methodik 46

a.Material 46

b.Methodik 51

II.Ergebnisse

1.Häufigkeit von Mono- und Multiresistenzen und Anteil sensibler Stämme 64

2.Beziehungen zwischen Herkunft und Resistenz der geprüften Enterobacteriaceae-Species 67

Seite

3.Häufigkeit einzelner Resistenz-Determinanten und bestimmter Resistenzmuster mit Aufteilung auf einzelne Species 67

4.Übertragbarkeit der Antibiotikaresistenz unter Berücksichtigung der Specieszugehörigkeit und Aufteilung der R-Plasmid-tragenden Stämme nach Herkunft 72

5.Häufigkeit der R-Plasmid-Übertragung bei Berücksichtigung des Resistenzmusters 75

6.Vorkommen der Colicinogenie unter Berücksichtigung der Specieszugehörigkeit und Nachweis der Col-Plasmid-Übertragung bei colicinbildenden Stämmen,aufgeteilt nach Species 80

7.Vermehrungsfähigkeit der Donator-Stämme in Bouillon im unteren Temperaturgrenzbereich(8°,6°,4°,2°C) 82

8.Übertragungsfrequenzen für R-Plasmide bei verschiedenen Species bei unterschiedlichen Temperaturen(37° und 4°C) in Bouillon 85

9.R-Plasmid-Übertragungen bei verschiedenen Temperaturen (22°,15°,10°,4°C) in Bouillon 88

10.Charakterisierung des Ausgangsmaterials

Fleisch (Schwein)für die R-Plasmid-Übertragungsversuche — Seite 90

11.R-Plasmid-Übertragungen im zerkleinerten Schweinefleisch bei verschiedenen Temperaturen (22°,10°,4°C) — 92

12.R-Plasmid-Übertragungen auf der Fleischoberfläche bei verschiedenen Temperaturen (37°,22°,15°,10°,4°C) — 94

D.Diskussion der Ergebnisse — 96

E.Schlußfolgerungen — 118

F.Zusammenfassung — 119

G.Anhang — 124

H.Literaturverzeichnis — 133

A. Einleitung

Die excessive Anwendung von Chemotherapeutika sowohl in der Therapie bzw. Prophylaxe als auch in Form der Antibiotikafutterzusätze sind für ein häufiges Vorkommen resistenter Mikroorganismen in der Darmflora der Nutztiere verantwortlich zu machen. Eine mögliche Gefährdung der menschlichen Gesundheit wird darin gesehen, daß vom Tier stammende Mikroorganismen den Menschen erreichen können, wobei als Vehikel auch Fleisch- und Fleischprodukte angesehen werden müssen. Daher erschien es lohnenswert, bei einer Auswahl repräsentativer Enterobacteriaceae-Stämme, die von Schweine-Schlachttierkörpern, -Teilstücken bzw. -Hackfleisch stammten und im Rahmen der Untersuchung von ÜLGEN (1976) isoliert worden waren

a) das Vorkommen multipler Antibiotikaresistenz
b) die Bildung eigener antibiotischer Stoffe (= Colicin)
c) und das Vorhandensein von genetischen Elementen (= Plasmiden), die Mehrfachresistenz mittels Konjugation auf empfängliche Bakterien-Stämme übertragen können, zu eruieren.

Bei der experimentellen Prüfung von potentiellen Donator-Stämmen sollte auch der Frage nachgegangen werden, ob die Umgebungstemperatur einen Einfluß auf die R-Plasmid-Übertragung ausübt, in welchen Maße sich die Übertragungsfrequenzen ändern und welche Bedeutung dem ungebenden Milieu (Fleisch) bei diesem Vorgang zuzumessen ist.

B. Literatur

1. Definition des Begriffs Resistenz

Die Beobachtungen über das Auftreten einer Chemoresistenz bei Mikroorganimen ist so alt wie die Chemotherapie selbst. Mit der Beschreibung des trypanociden Effekts von p-Rosanilin durch EHRLICH (19o7) erfolgte gleichzeitig die Mitteilung über die Möglichkeit der Resistenzentwicklung (FRANKE et al., 19o7). Es muß stets berücksichtigt werden, daß die Resistenz ein relativer, dosisabhängiger Begriff ist. Ein natürlich resistenter Stamm kann in den meisten Fällen durch entsprechend hohe Wirkstoffkonzentrationen gehemmt werden (SZYBALSKI und BRYSON, 1955). Umgekehrt kann auch ein sehr sensibler Stamm immer noch eine, wenn auch kleine Resistenz gegenüber einem vorgegebenen Arzneimittel haben. Im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit von Resultaten sind die von den Autoren gewählten Resistenzkriterien zu beachten. Als Parameter für die Resistenz dienen die Wirkungsintensität in vitro (= MIC) und die Antibiotika-Konzentration am Wirkungsort in vivo. Danach wird ein Keim als resistent bezeichnet, dessen minimale Hemmkonzentration in vitro höher ist als die höchste in vivo erreichbare Serum- oder Gewebekonzentration.

2. Mechanismen der Resistenzentstehung

Eine Vielzahl von Vorgängen, die einzeln oder in Kombination auftreten, können bei der Resistenzentstehung eine Rolle spielen. Ohne Veränderung des Genotyps kann

sich eine Resistenz durch Adaption ausbilden.Bis zur Entdeckung der die Resistenz vermittelnden Plasmide in Japan im Jahre 1959 galt die Resistenzentstehung, die durch die Veränderung des Genotyps bedingt ist,als Ergebnis einer genetischen Übertragung eines chromosomalen Resistenzgens durch Transformation oder Transduktion.

I.Adaption

Hierbei handelt es sich um eine milieubedingte Anpassung (GILLISEN et al.,1960),die in Abwesenheit des Antibiotikums nicht mehr lange nachweisbar ist;es liegt also eine milieubedingte gerichtete Änderung vor.Die Fähigkeit zur Adaption wird durch verschiedene Mechanismen kontrolliert,z.B.durch Induktion von Enzymbildungen oder Verlust von Zellorganellen,die der Angriffspunkt von Antibiotika sind.Die adaptierten Stämme behalten diese Fähigkeit 6-7 Generationen in Antibiotika-freien Medien bei.Eine solche Adaption unterscheidet sich von einer Mutation mit anschließender Selektion dadurch,daß hierbei alle oder die meisten Zellen der Population eine Änderung erfahren.

II.Genetik der Chemoresistenz

II.1.M U T A T I O N und V A R I A N T E N B I L D U N G

Bei den Mechanismen der Vererbung muß man an 2 grundlegende biologische Phänomene denken:1.an die Vererbung als dem Gesetz von der Stabilität eines Typs und 2.an das seltene Ereignis der Variantenbildung.Grundlage für beide erwähnten Phänomene sind die Gene.Vor

der Zellteilung erfolgt Replikation dies ist gewöhnlich ein sehr exakt ablaufender Vorgang.Ein einzelnes Gen besitzt eine geringe Wahrscheinlichkeit zu mutieren. Nach der Mutations-Selektions-Theorie von LURIA und DELBRÜCK (1943) ist die Resistenz gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika auf Mutation chromosomal lokalisierter Gene und anschließender Selektion zurückzuführen.Die Mutantenhäufigkeit bewegt sich in der Größenordnung 1×10^{-5} bis 10^{-10},wenn man individuelle Phänotypen beachtet (JAWETZ et al.,1972).Obwohl ein bestimmter Mutantentyp in einer Kultur in sehr geringer Zahl vorliegen kann,sind die Mutanten beachtenswert,da sie häufig einer Selektion unterworfen werden. So würde das Wachstum in einer kultur,bestehend aus 10^7 Penicillin-sensiblen Zellen und 10 Penicillin-resistenten Zellen,in Gegenwart von Penicillin zum Absterben aller Penicillin-sensiblen Zellen führen,so daß die resultierende Kultur schon nach einer einzigen Passage zu 100 % aus Penicillin-resistenten Zellen zusammengesetzt sein würde (JAWETZ et al.,1972).Eine auf solche Weise entstandene bakterielle Resistenz ist nur gegen e i n e bakterielle Substanz gerichtet.Stoffe mit gleichem oder verwandten Wirkungsmechanismus werden mitbetroffen - man spricht dann von Kreuzresistenz. Die Ausbildung einer Mehrfach-Resistenz in derselben Bakterienzelle,d.h. eine 2.,3. und weitere Mutation, um eine 2-,3- und Mehrfach-Resistenz zu erlangen,ist auf Grund der niedrigen Mutationsrate unerreichbar,d. h.,diese Theorie gibt keine Erklärung für die Mehrfach-

Resistenz.

II.2.T r a n s f o r m a t i o n

Bei der Transformation nimmt die Empfängerzelle lösliche DNS (=kleines Stück eines Genoms) auf,die von der Spenderzelle freigesetzt wurde.Die Transformation tritt nur bei solchen Bakterien auf,die in der Lage sind,hochmolekulare DNS aufzunehmen.Transformierende Bakterien sind in der Lage, DNS jeder Herkunft aufzunehmen,obwohl sie genetische Rekombinanten nur dann bilden,wenn der Spender ein eng verwandter Keim ist. Die Fähigkeit,DNS aufzunehmen,ist nur in bestimmten Stadien des Teilungszyklus gegeben,und nur ein Bruchteil der Population ist gewöhnlich zu einem bestimmten Zeitpunkt kompetent(JAWETZ et al.,1972).Da bei der Transformation nur ein Teil des Spendergenoms übertragen werden kann(REPLOH et al.,1961) und besondere Bedingungen vorhanden sein müssen,ist es unwahrscheinlich, daß durch diesen genetischen Mechanismus Bakterienzellen mehrfachresistent werden.

II.3.T r a n s d u k t i o n

Als Transduktion wird die Übertragung genetischen Materials mittels temperierter Phagen bezeichnet(ZINDER und LEDERBERG,1952).Dabei wird ein Fragment des Spenderchromosoms durch einen Phagen,der in der Spenderzelle gebildet wurde,auf eine Empfängerzelle übertragen.Auch R-Plasmide konnten WATANABE et al.(1961) und HARADA et al.(1963) mit Hilfe verschiedener Phagen auf Salmonella- und E.coli-Stämme übertragen,je-

doch nur mit geringer Frequenz

I.4. Übertragung genetischen Materials mittels Plasmiden

Plasmide sind extrachromosomale genetische Elemente, die sich funktionell und biophysikalisch von den Bakterienchromosomen unterscheiden. Es sind stabile vererbbare Elemente, die die Fähigkeit zur autonomen Replikation besitzen. Für die Übertragung genetischen Materials von einem Bakterium auf das andere ist das Vorhandensein von Übertragungsfaktoren, wie z.B. F-Plasmiden, R-Plasmiden, Col-Plasmiden oder auch anderen Plasmiden (MEYNELL et al., 1968), notwendig. Das F-Plasmid (früher F-Faktor; F = Fruchtbarkeit) verleiht der Zelle einen Mechanismus, der eine Konjugation erlaubt und die Zelle somit zum potentiellen genetischen Donator macht. Nach LEBEK (1975) werden als R-Plasmide solche bezeichnet, welche eine genetische Information für Antibiotikaresistenz, Metallresistenz oder Resistenz gegenüber anderen toxischen Substanzen besitzen. Col-Plasmide verleihen der Zelle die Fähigkeit zur Bildung bestimmter Colicine und die Möglichkeit zur Übertragung dieses Stoffes. Colicin gehört zu den bacteriocinen Stoffen, d.h. zu den antibiotischen Substanzen, die im Laufe des Wachstums von Bakterienkulturen gebildet werden und gegen arteigene Zellen gerichtet sind. TSCHÄPE et al. (1974) berichteten über eine weitere Gruppe von Plasmiden, den sogenannten Virulenz-Plasmiden der Enterobacteriaceae . Zu diesen Plasmiden zählen die drei verschiedenen Grund-

typen :Hyl-Plasmide,die die Synthese verschiedener Hämolysine kontrollieren,die Ent-Plasmide,die verschiedene Enterotoxine induzieren und die K 88 - Plasmide bzw. Kco-Plasmide,die als genetische Determinanten für das Proteinoberflächenantigen K 88 bzw. für ein 'common' K-Antigen (Kco) der Schaf- und Rinder-pathogenen E.coli-Serotypen wirken.Weiterhin ist bekannt,daß Plasmide verschiedene Merkmale und Leistungen der Enterobacteriaceae,wie z.B. die Lactosevergärung,Schleimbildung,Schwefelwasserstoffproduktion kontrollieren können (FALKOW et al.,1962),und man muß annehmen,daß es noch weitere,zur Zeit noch nicht eindeutig identifizierte Plasmide gibt.Auch die letzteren sind wie alle anderen Plasmide autonom transferabel oder lassen sich durch andere Transfer-Plasmide mobilisieren und können sich daher innerhalb der Enterobacteriaceae leicht verbreiten.Von der Ökologie wird den Virulenz-Plasmiden folgende Bedeutung zugemessen:Beteiligung am Virulenzgrad der pathogenen Bakterien,apathogene Bakterien können pathogenisiert werden,und ein Reserve-Gen-Pool für die Entstehung pathogenerer und virulenterer Bakterien kann gebildet werden (TSCHÄPE et al.,1974).

Übertragung genetischer Informationen durch Plasmide

Durch LEDERBERG (1946) wurde bekannt,daß genetisches Material nach erfolgtem Zell-Kontakt übertragen wurde. Die übertragenen Gene waren zwar im Bakterienchromosom lokalisiert,der aktuelle Prozeß

der Übertragung wurde jedoch durch ein extrachromosomal gelegenes Element,das F-Plasmid gesteuert(MEYNELL et al.,1968).Nach der Paarung gelangte ein Teil des Chromosoms,angeheftet an das F-Plasmid durch einen Pilus(eine "Röhre",die die beiden Zellen verbindet), von der Donatorzelle in die Akzeptorzelle;bei diesem Vorgang bricht leicht ein Segment des Chromosoms ab, oder die Paarung ist schon beendet,bevor das Chromosom übertragen ist.Gelingt die Chromosomenübertragung, muß es noch zu einer Rekombination mit dem Bakterienchromosom der Empfängerzelle kommen,da sonst keine genetische Fixierung stattfindet.Für die Entstehung mehrfachresistenter Mikroorganismen ist daher dieser Vorgang nicht verantwortlich zu machen.

Die Entdeckung der durch R-Plasmide vermittelten Resistenz: Die erste Isolation eines mehrfachresistenten Shigella-Stammes gelang in Japan im Jahre 1952 (SUZUKI et al.,1952).Die weiterhin in Japan isolierten mehrfachresistenten Shigellen im Zeitraum 1951 bis 1958 bestanden aus verschiedenen Serotypen und waren an unterschiedlichen Orten isoliert worden.Die Mehrfachresistenz trat explosionsartig auf;eine epidemiologische Verbreitung mußte aber aufgrund weiterer epidemiologischer Erhebungen verneint werden (MITSUHASHI,1971). Für dieses Phänomen gab es keine Erklärung,bis AKIBA (1959) vermutete,daß die Mehrfach-Resistenz von multiresistenten Escherichia coli auf Shigellen im Darmtrakt der Patienten übertragen werden können.Diese Übertra -

gung konnte unabhängig voneinander von OCHIAI et al. (1959) und AKIBA et al. (1960) in vitro nachgewiesen werden. Aus erfolglosen Resistenz-Übertragungs-Versuchen mit zellfreien Filtraten eines resistenten Donator-Stammes schlossen die beiden Forschergruppen um OCHIAI und AKIBA, daß Zell-zu-Zell Kontakt (oder Konjugation) für eine Übertragung notwendig ist. Nach diesen Untersuchungen wurde die Ähnlichkeit der infektiosen Resistenz mit dem F-Plasmid offensichtlich.

Struktur der R-Plasmide:

Es folgten Studien, die eine Erklärung für Mehrfach-Resistenz und deren Verbreitung erbringen sollten. WATANABE (1960) und ANDERSON et al. (1965 a,b,f) postulierten, daß Resistenz-Plasmide aus 2 voneinander unabhängigen Komponenten gebildet werden: 1. dem genetischen Fragment, welches die spezifische Arzneimittelresistenz (R-Determinanten) bestimmt und dem Resistenz-Transfer-Faktor (RTF), der mit den Determinanten verbunden ist, um einen Komplex zu bilden, der von der Donatorzelle durch Konjugation auf die Empfängerzelle übertragen wird. Die R-Plasmide können sich unabhängig und schneller als Bakterienchromosomen replizieren. Daher können mehrere R-Plasmid-Kopien in einer infizierten Zelle vorhanden sein. Da es zur Konjugation zwischen verschiedener Species kommen kann, ist es nicht überraschend, daß R-Plasmide zwischen allen Genera der Enterobacteriaceae und auch einigen Species von Vibrio, Pasteurella und Pseudomonas übertragen werden (WATANABE, 1963; LEBEK, 1963).

Auch können R-Plasmide sowohl in vitro (MACUCH et al., 1967) als auch in vivo (WALTON,1966 a;ROE et al.,1971) von nicht pathogenen Organismen auf pathogene Organismen übertragen werden.

Verlust des Transfer-Faktors:

Als konjugierendes Plasmid (LEBEK,1975) wird ein solches bezeichnet,das selbst die Übertragung seiner eigenen DNS veranlaßt;ein zum Eigentransfer nicht fähiges Element wird dagegen nicht-konjugierendes Plasmid bezeichnet.Ein R-Plasmid kann seinen Resistenz-Transfer-Faktor(RTF)(ANDERSON et al.,1967)auf 3 Wegen verlieren: 1.durch Segregation während der Multiplikation des Wirtsstammes,2.während des Transfers auf den neuen Wirt und 3.während der Transduktion auf einen neuen Wirt.Daraus resultieren resistente Stämme,jedoch können diese ihre R-Determinanten nicht übertragen.Auch sensible Stämme mit RTF kommen vor(ANDERSON,1965,f). Weiter berichtete ANDERSON über die Einführung eines RTF in einen resistenten,jedoch nicht zur Übertragung fähigen Salmonella-Stamm.Durch diese Manipulation konnte die Übertragungsfähigkeit für die Resistenzeigenschaften wiedererlangt werden,und gleichzeitig konnte damit eine Mobilisation solcher Determinanten durch geeignete Übertragungsfaktoren gezeigt werden.DULANY et al.(1968) untersuchten 23 mehrfachresistente E.coli-Stämme von erkrankten Tieren auf Vorkommen der infektiösen Resistenz.Nur 2 E.coli-Stämme übertrugen

ihre Resistenz auf Salmonella typhi, jedoch nach Einführung eines geeigneten Übertragungs-Faktors erwiesen sich die meisten Stämme als gute Donatoren. Auch die Einführung eines F-Plasmids (HARADA et al., 1964) oder Col-Plasmids (KROMERY et al., 1969) konnte eine R-Determinanten-Übertragung durch Konjugation bewirkt werden. Ähnliche Vorgänge wären auch bei Virulenz-Plasmiden denkbar. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, daß Stämme mit R-Plasmiden, denen der für den Transfer verantwortliche Genlokus fehlt, unter in vivo Bedingungen für die Resistenzverbreitung von Bedeutung sind, zumal dann eine große Zahl von Akzeptoren und Trägern episomaler Gene zur Verfügung steht.

R-Determinanten:

Nach AMTSBERG et al. (1973), BULLING et al. (1968), PATSCH et al. (1973), POCURULL et al. (1971) kontrollieren die bisher bekannten R-Plasmide Resistenz gegenüber: Tetracyclinen, Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, Chloramphenicol, Penicillinen, Ampicillin, Carbenicillin, Cephalotoin, Gentamycin, Sulfonamiden, Trimethoprim.

Konjugationsvorgang:

Die genaue Art und Weise des Konjugationsvorganges zwischen Donator- und Akzeptor-Zelle ist nicht bekannt. Es wird allgemein angenommen, daß die RTF in den Donator-Organismen für die Ausbildung spezieller röhrchenförmiger Zellanhängsel (=Pili) verantwortlich sind. Diese vereinen zeitweise Geber- und Empfängerzelle, währenddessen werden die Determinanten und der Übertra -

gungs-Faktor von der Donator- auf die Akzeptor-Zelle übertragen. In einer frisch infizierten Bakterienkultur können sich die R-Plasmide rasch vermehren und sich schnell in epidemischer Form in den Empfängerzellen verbreiten. Untersuchungen zur Kinetik des R-Plasmid-Transfers von WATANABE (1961) zeigten, daß eine Übertragung innerhalb 15 Minuten stattfand. Ein spezifisches R-Plasmid konnte sogar innerhalb 1 Minute übertragen werden, der phänotypische Ausdruck der R-Determinanten trat jedoch erst nach 1o Minuten auf. Bei einem anderen Stamm mit 1/1o Transfer-Frequenz wurde nach 8 Minuten das R-Plasmid übertragen. Daraus ergibt sich, daß die Konjugation und Plasmid-Übertragung schneller vor sich gehen kann als die Zellteilung. Daher sind diese Vorgänge unabhängig von der Zellvermehrung.

Frequenz:

Der episomale Transfer der R-Determinanten hat vielfältige Variabilitäten. WATANABE (1963) stellte bei E.coli-Wildstämmen eine R-Plasmid-Übertragungs-Frequenz zwischen $1o^{-2}$ und $1o^{-7}$ fest. LEBEK (1969) ermittelte ebenfalls unterschiedliche Übertragungs-Frequenzen und machte dafür die unterschiedlichen Akzeptor- und Donator-Eigenschaften verantwortlich. Als gute Donatoren bezeichnete er in Reihenfolge nach der Eignung E.coli, Shigella, Citrobacter und Pseudomonas aeruginosa. Salmonella-Species und Proteus-Keime waren als Donatoren bzw. Akzeptoren weniger aktiv. BERGMANN et al. (197o)

untersuchten den Einfluß der Wachstumsphase der Donatorzellen bei einem R-Plasmid-enthaltenden E.coli-Stamm auf die Übertragungs-Frequenz bei konstantem Akzeptor. Bei 4 Ansätzen erhielten die Untersucher jeweils einen gleichsinnigen Kurvenverlauf, der durch ein Minimum gegen Mitte bis Ende der logarithmischen Wachstunsphase und je ein Maximum in der lag- sowie in der stationären Phase gekennzeichnet war. Die Übertragung des R-Plasmids war zu Beginn der stationären Phase 1oo mal effektiver als am Ende der logarithmischen Wachstumsphase. In der Absterbephase gerieten die Werte an die Grenze des Nichtnachweisbaren. Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, daß eindeutige Beziehungen zwischen dem physiologischen Zustand der Donatorzelle und ihrer Fähigkeit, R-Plasmide zu übertragen, bestehen. Die Autoren vermuten, daß Änderungen im Stoffwechsel bzw. im Energiehaushalt der Zelle während der verschiedenen Wachstumsphasen für die beschriebenen Phämonene verantwortlich gemacht werden müssen. CHALOUPECKY et al. (1974) stellten fest, daß die Übertragungs-Frequenz auch bei den verschiedenen R-Determinanten variierte, sie lag zwischen $1o^{-2}$ und $1o^{-8}$, die durchschnittliche Frequenz lag bei $5 \times 1o^{-4}$. Über eine thermoempfindliche Replikation eines spezifischen R-Plasmids berichteten TERAWAKI et al. (1967). Ein Proteus vulgaris-Stamm, resistent gegenüber Sulfonamiden, Streptomycin, Tetracyclin und Kanamycin, wurde von einem postoperativen Pyelonephritis-Fall isoliert. Nur die Kanamycin-Determinante wurde mittels Konjugation auf einen sensiblen E.coli-Akzeptor übertragen.

Die Transfer-Frequenz des R-Plasmids für Kanamycin-resistenz betrug bei 25°C 3,6 x 10^{-2} pro Donatorzelle, bei 37°C dagegen 1,3 x 10^{-7} pro Donatorzelle, d.h. bei 25°C war die Frequenz 1oo.ooo mal höher als bei 37°C. Weiterhin konnte ein spontaner R-Plasmid-Verlust im Temperaturbereich von 42°C gezeigt werden. Diese Ergebnisse zeigen, daß die Umgebungsbedingungen bezüglich der Übertragungs-Frequenz der R-Plasmide eine Rolle spielen können. In Verbindung mit Studien über eine mögliche Beziehung zwischen R-Plasmid und Virulenz wurden von SMITH (1974b) R-Plasmide mit Determinanten für Chloramphenicol, Tetracyclin, Streptomycin und Sulfonamide auf E.coli K 12 übertragen. Als Donatoren dienten Salmonella typhi-Stämme, und zwar 3 Stämme aus Typhus-Fieber-Erkrankungen aus Mexico, 2 Stämme von Erkrankungsfällen in Indien, 4 Stämme aus Vietnam und 6 Stämme aus Thailand. 3 von den 15 Stämmen waren auch gegenüber Ampicillin resistent. Aufgrund der niedrigen R-Plasmid-Transfer-Rate wurden die Experimente bei den Temperaturen von 28°C und 22°C als Nachtrag zu der üblichen Inkubationstemperatur von 37°C wiederholt. Bei diesen Experimenten wurden 1,o ml Donator-Bouillon und o,1 ml der Nalidixinsäure-resistenten E.coli K 12-Mutante in 1o ml Nährbouillon gegeben und 24 Stunden bei den angegebenen Temperaturen bebrütet. Keimzahlen wurden von Nalidixinsäure-haltigen Nährböden ermittelt, diese dienten zur Abschätzung der E.coli K 12-Zahl. Chloramphenicol- und Nalidixinsäure-haltige Nährboden

wurden zur Bestimmung der Organismen,die R-Plasmide von den Donator-Stämmen erhalten hatten,herangezogen. Bei 37°C fand bei den 15 Kulturen entweder kein oder nur ein Transfer mit geringer Rate statt.Im Gegensatz dazu konnte eine sehr hohe Transferrate bei 28°C und 22°C Bebrütungstemperatur bei insgesamt 3o Kulturen ermittelt werden; 3o - 75% der E.coli K 12-Empfänger hatten R-Plasmide aufgenommen.Ähnliche Ergebnisse erhielten die Untersucher bei R-Plasmid-Übertragungen zwischen 4 dieser resistent gewordenen K 12 R^+ - Stämme und einem Vi Salmonella typhi-Stamm.Keine oder nur wenige Organismen erhielten das R-Plasmid bei 37°C; dagegen konnten es 1o - 8o % der Akzeptoren bei Temperaturen von 28°C bzw.22°C aufnehmen.Ein weiterer Beweis,daß die 15 Salmonella typhi-Stämme thermosensible Transfer-Faktoren besaßen,die ähnlich dem von TERAWAKI et al.(1967)gefundenen Proteus-Stamm waren,erhielt man aufgrund von Passagierungs-Ergebnissen im Temperaturbereich 43 - 44°C. 18 - 65 % der Stämme verloren ihre R-Plasmide nach 5 Passagen.Die Ergebnisse weisen darauf hin,daß der Transfer dieser thermoempfindlichen R-Plasmide zwischen Salmonella typhi und anderen Enterobacteriaceae,wie z.B.E.coli,mit größerer Wahrscheinlichkeit in ausgeschiedenen Faeces und in Abwässern vorkommt als im Verdauungstrakt.Dies mag die Art und Weise gewesen sein,wie die 15 untersuchten Salmonella typhi-Stämme ursprünglich ihre R-Plasmide erhalten hatten.

Der Temperatureinfluß auf die R-Plasmid-Übertragung:

Über die Wirkung der Temperatur in der Bouillon-Misch-Kultur auf den Transfer der R-Plasmide berichteten AKIBA und IWAHARA (1961) .Diese stellten fest,daß die optimale Temperatur für die R-Plasmid-Übertragung zwischen 37°C und 42°C liegt.Entsprechende Ergebnisse erhielt MITSUHASHI (1965) mit einer Optimaltemperatur von 37°C .LEBEK (1969) stellte ebenfalls als Temperaturoptimum den 37°C-Bereich fest.R-Plasmid-Übertragungen konnten von ihm zwischen 22°C und 40°C ,nicht aber unter 15°C und über 45°C,festgestellt werden.

Der Einfluß des pH-Wertes auf die R-Plasmid-Übertragung:

AKIBA und IWAHARA (1961) nennen als optimalen pH-Wert für Plasmid-Übertragungen 7,2 . Nach LEBEK (1969) liegt das pH-Optimum zwischen 7,0 und 8,0 . MITSUHASHI (1971) konnte R-Plasmid-Übertragungen zwischen den pH-Werten 5,0 und 9,5 ermitteln,dabei lag das pH-Optimum bei 7,5 .Nach WIEDEMANN (1972) trat eine Verminderung der R-Plasmid-Übertragungen nur bei einem pH im sauren Bereich (= unter 5,5) auf.Der Mechanismus der Plasmid-Übertragung ist somit bezüglich pH-Änderungen als wenig empfindlich zu beurteilen.

3.Vorkommen der R-Plasmide

Nach der Entdeckung der infektiösen Resistenz in Japan beschäftigten sich viele Untersucher in verschiedenen Ländern mit R-Plasmid-bedingter Resistenz bei Bakterien sowohl aus menschlichem als auch tierischem oder anders geartetem Untersuchungsgut.

I.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae bei Menschen

Über das hohe Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae bei Menschen berichteten :SMITH et al.(1965 a und b);GILL et al.(1966);MITSUHASHI et al.(1967); SCHRÖDER et al.(1967);STRAUBE et al.(1967);MOORHOUSE et al.(1968 und 1969);GUNTER et al.(1969);LEBEK (1969); SIECKMANN et al.(1969);HÖHNE (1970);WIEDEMANN et al. (1971) und andere.Bei diesen Untersuchern waren 50 - 100 % der mehrfach-resistenten Enterobacteriaceae in der Lage,ihre R-Plasmide in vitro auf geeignete Akzeptoren zu übertragen.Jedoch nicht nur bei chemotherapeutisch behandelten Menschen,sondern auch bei Menschen,die über einen langen Zeitraum keine Arzneimittel erhalten hatten oder Säuglingen,die nie mit Antibiotika in Berührung gekommen waren (GUINEE,1972) , konnten R-Plasmid-tragende Bakterien nachgewiesen werden.Somit stellte sich die Frage nach dem Ursprung und der Persistenz dieser Bakterien.Um das hohe Vorkommen von Enterobacteriaceae bei chemotherapeutisch unbehandelten Menschen zu erklären,war es das besondere Anliegen von KNOTHE et al.(1973),etwas über die Persistenz von R-Plasmid-tragenden E.coli im Intestinaltrakt des Men-

schen in Erfahrung zu bringen.Sie untersuchten täglich über einen Zeitraum von 14 Tagen die Faecalflora von freiwilligen Versuchspersonen,die vor Versuchsbeginn nicht antibakteriell behandelt worden waren.Die Untersucher konnten zeigen,daß ohne chemotherapeutischen Selektionsdruck die Zahl der resistenten Bakterien zeitweise hoch ist.Eine Person hatte z.B. an einigen Tagen zu 1oo % resistente R-Plasmid-tragende Bakterien in ihrer Intestinalflora.Bei einigen Versuchspersonen traten permanent R-Plasmid-tragende E.coli auf.Die Länge der Persistenz dieser E.coli-Typen war unterschiedlich.Die meisten Stämme mit R-Plasmiden traten kurz auf,um dann schnell wieder zu verschwinden.Einige verschwanden nach 5 bis 6 Tagen aus der Darmflora. 3 Stämme konnten 14 Tage lang persistieren und wurden in einem Fall sogar noch 1/2 Jahr später nachgewiesen. Diese Ergebnisse konnten somit eine Erklärung für das hohe Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in der Darmflora des Menschen geben.Es gibt Bakterienstämme,die sich leicht im Darm ansiedeln und sich dann wie ein permanenter Stamm verhalten;sie verlieren dabei nicht ihre R-Plasmide,obwohl kein Selektionsvorteil - soweit bekannt - der Wirtszelle gegeben wird. Auf der anderen Seite ist es nicht überraschend,daß die meisten R-Plasmid-tragenden E.coli-Typen kurz nach ihrem Auftreten wieder verschwinden,da dieses Verhalten der E.coli-Stämme bei der sogenannten Durchgangsflora des Darmes bekannt ist.

II. Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae bei Tieren

Ebenso wie in den Keim-Populationen menschlichen Ursprungs wurden auch bei Enterobacteriaceae tierischer Herkunft R-Plasmide in der gesamten Welt gefunden. (ANDERSON,1965 b;FATTA,1965;KABINS et al.,1966; WALTON,1966;MITSUHASHI et al.,1967;SCHRÖDER et al., 1968 und SMITH et al.,1966 a).Im Jahre 1957 vermutete SMITH,daß Antibiotika-Verabreichungen an Tiere zu einem erhöhten Vorkommen chemotherapeutika-resistenter E.coli führen.Den Effekt kontinuierlicher Futtermittelgaben,die geringe Tetracyclin-Mengen enthielten,auf Populationen nicht-pathogener E.coli im Verdauungstrakt von Schweinen und Geflügel untersuchten SMITH und CRABB (1957).Die Keim-Zahlen der E.coli in den Faeces der Kontroll- und Versuchs-Schweine und der entsprechenden Geflügelgruppen zeigten,daß wirkstoffhaltiges Futter zu einer Konzentration resistenter Organismen im Darmtrakt der Tiere führt.In weiteren Untersuchungen konnte der enge Zusammenhang zwischen nutritiver Antibiotika-Anwendung und dem vermehrten Auftreten resistenter Bakterien aufgezeigt werden (MACUCH,1967;LOKEN,1971,FLEMING,1973). Am Modell eines Chloramphenicol-Fütterungsversuches an Schweinen konnten BULLING et al.(1971;1972) zeigen, daß unter dem Einfluß der Antibiotika-Beifütterung die sensible Darmflora durch resistente Coliforme ersetzt wird.Ähnliche Verhältnisse liegen bei Tetracyclin-

Beifütterung vor.Bei den meisten resistenten Stämmen konnte in R-Plasmid-Übertragungsversuchen die infektiöse Natur der Resistenz demonstriert werden.Der Zeitraum vom Beginn der nutritiven Antibiotika-Verabreichung bis zur vollkommenen Resistenz der coliformen Darmflora kann stark variieren.Nach SMITH (1968) gibt es grundsätzlich keinen Unterschied zwischen dem Vorkommen resistenter Bakterienstämme als dem Ergebnis einer Chemotherapeutika-Anwendung in therapeutischer Dosis und dem Ergebnis der Anwendung als Futterzusatzstoff. Die Gegenwart eines Arzneimittels übt einen Selektionsdruck aus,der die Beseitigung empfindlicher Stämme und ihren Ersatz durch resistente Stämme zur Folge hat.Bei therapeutischen Dosen ist der Selektionsdruck sehr hoch aber von kurzer Dauer,dagegen bei Anwendung von Futterzusatzstoffen geringer und von längerer Dauer.

Verbot von Antibiotika als nutritive Futterzusätze:

In England wurde im März 1971 Tetracyclin als Zusatzstoff für Futtermittel verboten,da eine Akkumulation Tetracyclin-resistenter E.coli im Verdauungstrakt der so beigefütterten Schweine auftrat. In der veterinärmedizinischen Praxis wurden jedoch weiterhin Tetracycline benutzt.Um den Effekt dieses Verbots abzuschätzen,verglich SMITH (1973) das Vorkommen resistenter Organismen bei Schweinen in den Jahren 1956, 1970 und 1972.Seine Ergebnisse lassen vermuten,daß während der 16-Monats-Periode des Verbots Tetracyc-

lin-haltiger Futtermittel das Vorkommen Tetracyclin-resistenter E.coli in Faeces bei Schweinen nicht abgenommen hat,aber daß die A n z a h l Tetracyclin-resistenter E.coli sich in der Schweinepopulation vermindert haben könnte.In Norwegen wurde ebenfalls im März 1971 eine Verordnung eingeführt,die per Gesetz verbietet,Antibiotika mit therapeutischer Verwendbarkeit zu Futtermitteln als nutritiven Zusatz einzumischen.LARSON et al.(1974) untersuchten 3 Schweinegruppen vor und nach Einführung des Verbots halbjährlich 2 Jahre lang auf die Verbreitung resistenter E. coli.In den 3 Beständen beherbergten 93 % der Schweine Antibiotika-resistente E.coli, und 57 % der Stämme zeigten übertragbare Resistenz.Die entsprechenden Zahlen für die folgenden 2 Jahre waren 95% und 35% (1971) und 91% und 45% (1972).Danach blieb während der Untersuchungen 197o,1971 und 1972 das Auftreten resistenter E.coli unverändert,es konnte jedoch festgestellt werden,daß sich das Vorkommen R-Plasmid-tragender E.coli beträchtlich vermindert hatte.

III. Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in Lebensmitteln

Auf Grund der Vermutung,daß Nutztiere eine bedeutende Quelle für Organismen mit übertragbarer Antibiotikaresistenz für den Menschen darstellen könnten,untersuchten MOORHOUSE et al.(1969) in Irland gekochte und ungekochte Würste aus einer Fleischfabrik und

aus 21 lokalen Fleischerläden. Zunächst wurden sofort nach der Schlachtung Abstriche am Darmlumen von Schweinen vorgenommen, weiterhin wurden untersucht: Schweineteilstücke (Probenentnahme in der Schinkenregion, diese Stücke waren bei 4°C gelagert worden), Händeabstriche von 3 Fleischern, die die Teilstücke entbeinten, und von 6 Frauen, die die Wurstdärme (Schweinedarm), das Fleisch oder das Endprodukt bearbeiteten, schließlich Wurstdarm- und Inhalt in rohem und gekochten Zustand. Von 21 Würsten kleiner Hersteller enthielten 11 resistente E.coli (s.Tab.). Der Wurstdarm und das Fleisch bei 3 von diesen 11 Würsten enthielten resistente E.coli-Organismen mit übertragbaren R-Plasmiden.

Isolierungen resistenter E.coli-Stämme von "Laden"-Wurst und aus Proben einer Fleischfabrik (MOORHOUSE et al., 1969)

Quelle	Proben-anzahl	Zahl der Proben mit resistenten Stämmen
"Ladenwürste"		
Wurstdarm	21	8 (38 %)
Wurstinhalt	21	6 (29 %)
Schwein, Faeces-Proben	12	11 (92 %)
Schweineteilstücke	3	3
Händeabstriche	9	5 (56 %)
Fabrikwürste		
Wurstdarm (ungekocht)	6	6
Wurstinhalt (ungekocht)	6	4
Wurstdarm (gekocht)	6	0
Wurstinhalt (gekocht)	6	4

MOOHOUSE et al.(1969)isolierten R-Plasmide bei 5 der 6 untersuchten Schweine,die 1 Jahr alt waren,aus den Faeces und aus allen Kotproben der 6 Jahre alten Schweine.Alle 3 Proben von den Teilstücken enthielten resistente E.coli,2 Proben davon enthielten Stämme mit R-Plasmiden.5 der 9 Händeabstriche waren für resistente E.coli positiv,4 zeigten Vorkommen von R-Plasmiden.Alle Wurstdärme und das Fleisch von 4 der 6 ungekochten Würste lieferten resistente E.coli.Nach dem Kochen waren die Wurstdärme zwar steril,der Wurstinhalt enthielt jedoch resistente,zur R-Plasmid-Übertragung fähige E.coli.Anhand dieser Ergebnisse ließ sich eine häufige Kontamination der Fleischprodukte mit resistenten Mikroorganismen zeigen.Angaben über die Keimmenge der Coliformen wurden aber nicht gemacht. Es blieb daher ungeklärt,ob die im Lebensmittel vorhandenen Coliformen in genügender Anzahl vorkommen, um bei Nahrungsaufnahme durch den Menschen sich im Verdauungstrakt behaupten und ansiedeln zu können. COOKE (197o) vermutete,daß die Ursache der wechselnden faecalen Keimpopulationen des menschlichen Darms in der Aufnahme von Enterobacteriaceae-Stämmen mit der Nahrung zu suchen ist.Die Autorin untersuchte daher Krankenhausverpflegung und menschliche Faeces auf das Vorkommen von E.coli.Die in den Faeces der Patienten gefundenen E.coli-Serotypen wurden mit denen aus Lebensmitteln verglichen.In 5 Fällen konnte gezeigt

werden,daß die faecalen E.coli-Serotypen denen der Nahrung entsprachen.SHOOTER (197o) suchte nach der Kontaminationsquelle der Lebensmittel.Auf das Vorkommen von E.coli wurden daraufhin überprüft:die Krankenhausverpflegung,die Krankenhausküche,das Fleisch bei der Ankunft im Krankenhaus,das Fleisch während der verschiedenen Verarbeitungsstufen,die Umgebung im Schlachthaus und eine Geflügelpackstation.Dabei konnte eine weite Verbreitung verschiedener E.coli-Serotypen bei allen Gelegenheiten festgestellt werden.Sofort nach dem Kochen war das Fleisch zwar frei von E.coli,wurde jedoch mit den Kochgerätschaften vor dem Verzehr stark rekontaminiert,so daß nicht geringe Keimmengen von den Patienten aufgenommen wurden.Übereinstimmende Sero-Typen in menschlichen Faeces und in Lebensmitteln ließen die Untersucher annehmen,daß vom Tier stammende E.coli-Stämme sich im Darmtrakt der Patienten angesiedelt hatten.WALTON (197o) unternahm den Versuch,das Ausmaß der Kontamination von Fleischteilen mit Antibiotika-resistenten coliformen Organismen in 2 Schlachthäusern zu untersuchen.Je 4oo Proben von Schweine- und Rinder-Teilstücken wurden untersucht.Von 331 coliform-positiven Proben beim Schwein besaßen 8o % Antibiotikaresistenz und von 2o8 positiven Proben beim Rind 39 % Resistenz. 4o % der resistenten Stämme konnten ihre R-Plasmide auch auf pathogene Akzeptoren(z.B. Salmonella typhimurium) übertragen.Daraus ergab sich, daß sofort nach dem Schlachtprozeß eine hohe Kon-

taminationsrate mit Coliformen tierischen Ursprungs vorhanden war. Daraufhin stellte sich die Frage, ob Antibiotika-resistente Enterobacteriaceae, die Fleisch und Fleischprodukte kontaminieren, den Menschen auf diesem Wege erreichen, und wenn dies geschieht, wie groß die Anzahl der mit dem Lebensmittel aufgenommenen Bakterien ist. WALTON (1971) untersuchte in England frisches Fleisch (gehacktes Rindfleisch und Wurst) und zubereitetes Fleisch (Kochschinken und Schweinebraten) von 25 Fleischerläden auf vorkommende Kontamination mit Antibiotika-resistenten faecalen coliformen Bakterien. Von 25 untersuchten Fleischproben waren 11 Würste, 3 Hackfleischproben, kein Kochschinken und 2 Schweinebratenproben mit faecalen E.coli kontaminiert. Alle Proben, frisch und gekocht, waren stark mit anderen als coliformen Bakterientypen kontaminiert: bis zu 10^6 Bakterien/g des gekochten Schinkens und bis zu 10^5 Bakterien/g beim Schweinebraten. Ungefähr 40 % des gekochten Fleisches trugen Arzneimittel-resistente coliforme Organismen (siehe Tabelle von WALTON 1971). Der Hauptteil der Kontaminanten waren gram-positive Organismen, in einigen Fällen dominierte auch Proteus. Durch langsames Wachstum des Hauptteils der gram-negativen Kontaminanten bei 37°C konnte gezeigt werden, daß diese nicht faecalen Ursprungs waren, da festgestellt worden war, daß E.coli faecalen Ursprungs schon innerhalb von 12 - 18 Stunden bei der gleichen Temperatur vollständig entwickelte Kolonien aufwiesen. Aus den

Bakterielle Kontamination von Fleischprodukten (WALTON, 1971)

	rohes Fleisch		gekochtes Fleisch	
	Rinder-gehacktes	Wurst	Koch-schinken	Schweine-braten
Anzahl der Proben	25	25	25	25
coliform + Proben	11	22	2	4
Proben mit R-Plasmid-tragenden Coliformen	1	1	o	o
Proben mit Colicin-bildenden Bakterien	3	5	o	2
Coliforme/g	$4x1o^2$	$1x1o^3$	$5x1o^2$	$1x1o^3$
Bakterien/g	$8x1o^7$	$6x1o^5$	$1x1o^6$	$1x1o^5$

Ergebnissen ergab sich, daß Fleisch und Fleischprodukte in nur geringem Maße mit Antibiotika-resistenten E.coli, welche zum größten Teil nicht faecalen Ursprungs waren, kontaminiert waren, im Verhältnis zur übrigen kontaminierenden Keimflora gesehen. R-Plasmid-tragende Coliforme konnten nur in 2 Proben festgestellt werden und zwar einmal im Rindergehackten und einmal in der Wurst (= 2%). COOKE und SHOOTER (1971) untersuchten die schon früher (COOKE et al., 197o und SHOOTER et al., 197o) isolierten und serologisch typisierten E.coli-Stämme verschiedener Herkunft nachträglich auf das Vorkommen resistenter und zur R-Plasmid-Übertragung fähiger Stämme. Es wurden untersucht: die Krankenhausverpflegung, die Krankenhausküche, das Fleisch bei der Ankunft (Schwein und Rind), Fleisch während der verschiedenen Verarbeitungsstufen, die Umgebung im Schlachthaus, Faeces von Patienten und vom Küchenpersonal. Aus allen diesen Quellen konnten resistente coliforme Keime isoliert werden. Die Untersuchungs-

ergebnisse zeigten,daß R-Plasmid-tragende Coliforme, die vom Tier stammten,auf rohem Fleisch in die Krankenhausküche gelangten.Durch Kontamination wurden resistente Mikroorganismen weiter verbreitet und mit der Nahrung von den Patienten aufgenommen und konnten schließlich in ihren Faeces nachgewiesen werden.Auf infektiöse Resistenz wurde die Verpflegung und die Patientenfaeces nicht untersucht. Von diesen insgesamt 658 resistenten Stämmen konnten bei 193 (=29 %)R-Plasmid-Übertragungen ermittelt werden,und zwar waren es beim Schweinefleisch 32 (= 34 %) Stämme,beim Geflügel 45 (=3o%), Fleisch bei der Ankunft im Krankenhaus 16 (= 44%) der Stämme und bei den Faeces des Küchenpersonals 21 (= 23%) der Stämme,die R-Plasmide aufwiesen. In Südafrika untersuchte HEEVER (1972) 1o Hackfleisch-und 31 Milch-Proben.Beim Fleisch konnten 5 Stämme mit Einfach- und 2 Stämme mit Zweifach-Resistenz ermittelt werden.Eine R-Plasmid-Übertragung auf Salmonella typhimurium und auf E.coli K 12 konnte nicht festgestellt werden.Bei Milch wurden 6 Stämme mit Einfach- und je 1 Stamm mit Zweifach- bzw.Dreifach-Resistenz entdeckt.Nur 1 Stamm hatte ein auf Salmonella typhimurium übertragbares R-Plasmid.Auf E.coli K 12 konnte keine Plasmid-Übertragung festgestellt werden.BABCOCK et al.,1973 stellten in den U S A bei zurechtgemachtem rohem und gekochtem Rindfleisch das Vorkommen R-Plasmid-tra-

gender E.coli-Stämme fest.Zu Vergleichszwecken untersuchten die Autoren auch Faeces gesunder Menschen. Von den 98 Fleischisolaten waren gegenüber einem oder meheren Antibiotika 8o % der Stämme resistent, bei den Isolaten von Menschen dagegen 54 % der Stämme. Die häufigste im Fleisch vorkommende Resistenz-Determinante war Ampicillin mit 34 %,gefolgt von Streptomycin mit 24 % der resistenten Stämme.Bei den Isolaten vom Menschen stand an 1.Stelle Streptomycin mit 23 % gefolgt von Oxytetracyclin,Tetracyclin und Chloramphenicol mit jeweils 2o % der resistenten Stämme.
89 % der Stämme,isoliert vom Menschen, waren mehrfach-resistent,dagegen betrug der Prozentsatz bei den Fleischisolaten 54 % der Stämme.Bei den letzteren konnte eine R-Plasmid-Übertragung von 74 % und bei den Isolaten vom Menschen von 85 % festgestellt werden. Damit demonstrierten diese Ergebnisse ebenfalls ein hohes Vorkommen resistenter und zur R-Plasmid-Übertragung fähiger E.coli-Stämme sowohl beim Tier als auch beim Menschen.Es wurden keine übereinstimmenden Verhältnisse bezüglich der Resistenzmuster und der R-Plasmid-Übertragungsfähigkeit bei den verschiedenen Isolaten festgestellt.Dennoch dürfen die vom Tier stammenden E.coli-Stämme als mögliche Infektionsquelle des Menschen nicht außer Acht gelassen werden. Eine Kontamination mit intestinalen Mikroorganismen der Fleischteile während des Schlachtgeschehens kann nicht vermieden werden.Auf diesem Wege können Fleisch und Fleischprodukte mit resistenten E.coli

kontaminiert und vom Tier durch Fleisch bzw.Fleischprodukte zum Verbraucher transportiert werden.Wenn dieser Mechanismus eine wichtige Rolle für Infektionen des Menschen mit resistenten Enterobacteriaceae spielt,müßte man erwarten,daß resistente E.coli weit häufiger bei fleischessenden Individuen vorkommen als bei Nichtfleischessern.GUINEE (1972) verglich das Vorkommen resistenter Bakterien bei unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen,die in verschieden starkem Maße Tieren und tierischen Produkten ausgesetzt waren. Er untersuchte fleischverbrauchende Erwachsene,Vegetarier und unter 6 Monate alte Säuglinge,die zu Hause geboren worden waren und dort lebten.Niemand der Untersuchten war mit Antibiotika behandelt worden und in den letzten 3 vorhergehenden Monaten im Krankenhaus gewesen.

Vorkommen der Resistenz (R in %) und R-Plasmid-tragender E.coli(R^+ in %) bei Nichtvegetariern,Vegetarien, Säuglingen (GUINEE,1972)

	Zahl der untersuchten Menschen	I		II	
		R	R^+	R	R^+
Militärküchenpersonal	4oo	38	25(18)	45	28(21)
Büroangestellte	86	23	9(8)	31	16(16)
Vegetarier	77	36	24(9)	44	26(1o)
Säuglinge	87	32	18(8)	-	- -

25 = Akzeptor E.coli K 12,(18)Akzeptor Salmonella typhi oder panama

I,II = 1.,2. Untersuchungsreihe

Die Ergebnisse zeigten(siehe Tabelle)ein höheres Vor-

kommen resistenter E.coli bei Vegetariern und Säuglingen als bei Büroangestellten. Aufgrund seiner Ergebnisse schließt GUINEE zwar nicht aus, daß Fleisch und Fleischprodukte irgendeine Rolle bei der Infektion des Menschen mit resistenten E.coli spielen. Danach müssen so wie Salmonellen auch E.coli-Keime, die über das Fleisch aufgenommen werden, als mögliche Infektionsquelle angesehen werden. In GUINEE's Untersuchungen schienen jedoch andere Faktoren eine bedeutendere Rolle zu spielen als Fleisch oder Fleischprodukte. Als einer dieser Faktoren wird Gemüse bzw. ungekochter Salat, welche Kontakt mit kontaminiertem Oberflächenwasser hatten, diskutiert. Untersuchungen von KNIEWALLNER et al. (1975) über Oberflächenkeime von Schlachttierkörpern (Rind, Schwein und Geflügel) kurz nach der Schlachtung hinsichtlich des Vorkommens resistenter Enterobacteriaceae ergaben folgendes: Die quantitativen Keimzahl-Bestimmungen resistenter Enterobacteriaceae zeigten für diese Species durchschnittliche Prozentanteile von 18 - 2o % beim Rind, die entsprechenden Werte beim Schwein lagen je nach Verarbeitungsstufe zwischen 12 und 14 %. Die Resistenzverhältnisse wurden mittels folgender 5 Chemotherapeutika ermittelt: Streptomycin 1o mcg, Tetracyclin 1o mcg, Chloramphenicol 1o mcg, Erythromycin 1o mcg, Sulphafurazol 1oo mcg. Am häufigsten wurden dreifachresistente Stämme, aber auch häufig zwei- und vierfachresistente Stämme festgestellt. Folgende Resistenzmuster dominierten: bei zweifachresistenten Stämmen Streptomycin/Tetracyclin; bei dreifachresistenten

Stämmen Streptomycin/Tetracyclin/Sulphafurazol und Streptomycin/Tetracyclin/Erythromycin; das häufigste Muster bei den vierfachresistenten Stämmen war Streptomycin/Tetracyclin/Erythromycin/Sulphafurazol.Gegenüber Streptomycin waren je nach Tierart 88-90 % der untersuchten resistenten Stämme der Enterobacteriaceae unempfindlich;gegenüber Tetracyclin waren es 60 -86 %, gegenüber Chloramphenicol 52-54 % der Stämme. ÜLGEN (1976) untersuchte die Keimflora von Schweineschlachttierkörpern und -teilstücken aus verschiedenen Stadien der Herrichtung und Verarbeitung auf das Vorkommen resistenter Enterobacteriaceae.Folgende Chemotherapeutika wurden zur Ermittlung des Resistenzspektrums herangezogen: Ampicillin 10 mcg,Chloramphenicol 10 mcg,Oxytetracyclin 10 mcg,Streptomycin 10 mcg,Kanamycin 10 mcg,Gentamycin 5 mcg,Sulfathiazol 100 mcg,Sulfamethoxazol 25 mcg,Trimethoprim 1,25 mcg und Furazolidon 50 mcg. Der Prozentsatz resistenter Enterobacteriaceae zur Gesamtzahl der Enterobacteriaceae lag bei schlachtwarmen Tierkörpern bei rund 39,0 %,bei durchgekühlten und zerlegten Tierkörpern bei rund 61 % und bei zerkleinertem Fleisch bei 48,0%. Die häufigsten Resistenz-Determinanten waren gegenüber Oxytetracyclin mit 54 % der Stämme,Streptomycin 49 %, Sulfonamide 60 % und Ampicillin 50 % der Stämme.Die häufigsten Kombinationen bei den zweifachresistenten :Oxytetracyclin/Streptomycin,bei den dreifachresistenten Stämmen Oxytetracyclin/Streptomycin/Ampicillin und Oxy-

Tetracyclin/Streptomycin/Sulfonamide,bei den vierfach-resistenten Stämmen Oxytetracyclin/Streptomycin/Ampicillin/Sulfonamide.

Über das Vorkommen von R-Plasmid-tragenden Enterobacteriaceae in der Milch berichtete JONES (1971).Es wurden 1052 Milchproben auf das Vorkommen von E.coli Typ I ,dessen Vorhandensein in der Milch als Indikator direkter bzw. indirekter faecaler Kontamination gilt, untersucht.Von den 127 isolierten E.coli-Stämmen zeigten 15 Resistenzen gegenüber einem oder mehreren Antibiotika.14 Stämme waren aus unbehandelter Milch und 1 Stamm aus pasteurisierter Milch isoliert worden. 3 der 15 Stämme übertrugen ihre Resistenz direkt auf E.coli K 12, und bei 2 Stämmen konnten die R-Determinanten nach Mobilisation mittels eines Übertragungsfaktors übertragen werden, so daß 5 (= 33 %) Stämme von insgesamt 15 als Träger übertragbarer Resistenz ermittelt werden konnten.

IV.Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in anderen Biotopen

Vorkommen von R-Plasmiden im Wasser:

Mit der Prävalenz von R-Plasmid-infizierten Bakterien im Flußwasser beschäftigten sich SMITH (1970) und HUGHES et al. (1974),indem sie über die Kontamination britischer Flüsse mit Antibiotika-resistenten coliformen Keimen berichteten.Wie zu vermuten,war von den untersuchten resistenten Enterobacteriaceae ein Teil der Stämme fähig,ihre Plasmide zu übertragen.Den besonderen Aspekt dieser Er-

gebnisse erörterte SMITH (1970),indem er auf den möglichen Ausbreitungsweg TIER-ABWASSER-MENSCH und auch auf den umgekehrten Weg MENSCH-ABWASSER-TIER hinwies.R-Plasmid-tragende Enterobacteriaceae werden vom Menschen mit den Faeces ausgeschieden und direkt oder indirekt z.B. mit Abwassern auf die Tiere übertragen.Da auch unter besonderen Bedingungen die Möglichkeit zur Konjugation besteht (LEBEK,1969), muß dem Ort des Transfers hinsichtlich der Epidemiologie ebenfalls Beachtung geschenkt werden.

Vorkommen von R-Plasmiden in Futtermitteln:
Auch Futtermittel können R-Plasmid-tragende Enterobacteriaceae enthalten.Seit längerer Zeit ist bekannt, daß mit Salmonella-Species kontaminierte Futtermittel für Salmonellosen in Tierbeständen verantwortlich gemacht werden können und daß Futtermittel als Verbindungsglied bei der Verbreitung bei Salmonellainfektionen über das Tier zum Menschen fungieren können.Daher war für die letztere Species Interesse vorhanden,nicht dagegen für die übrigen gram-negativen Keime,deren Vorhandensein für die menschliche und tierische Gesundheit nur bedingt von Bedeutung erschien.So ist es zu erklären,daß erst im Jahre 1972 ZIEBOLD von der Prüfung von 207 Futtermitteln verschiedener Herkunft und Zusammensetzung auf Antibiotika-Resistenz und Vorkommen von R-Plasmiden berichtete.Die Autorin konnte feststellen, daß 34 von insgesamt 196 aus den Futtermitteln isolierten Stämme mehrfachresistent waren. 5,5 % der Mandelsfuttermittel enthielten mehrfachresistente Enterobacteriaceae.Mittels Trypaflavindepression wurden die R-Plasmid-tragenden Stämme ermittelt.Bei 4,4 %

der Stämme ließ sich die infektiöse Resistenz nachweisen. Im Jahre 1975 untersuchten HOWELLS und JOYNSON verschiedene, routinemäßig in ihrem Labor eintreffende Tierfuttermittel auf Vorkommen coliformer Keime. Sie ermittelten das Resistenzspektrum mittels Multodiks, und die R-Plasmid-Übertragung wurde bei drei- bis fünf-fachresistenten Stämmen untersucht. Ihre Ergebnisse zeigten, daß die Futtermittel eine beträchtliche Anzahl Antibiotika-resistenter Coliformer enthielten und daß 67 bis 96 % der 3-,4- und 5 -fachresistenten Stämme ihre Resistenz auf andere Organismen übertragen konnten. Die Autoren diskutierten die Möglichkeit der Ansiedelung resistenter Coliformer im Darmtrakt, wenn gleichzeitig Antibiotika z.B. in Form nutritiver Dosen oder auch zur Infektionsprophylaxe gegeben werden. Die Folge wäre eine Selektion zugunsten der resistenten Mikroorganismen und die Elimination der empfindlichen Stämme.

4. R-Plasmid-Übertragungen in vivo

In vitro können R-Plasmid-Übertragungen zwischen Enterobacteriaceae, auch wenn die Übertragungsfrequenz nur sehr gering ist, leicht demonstriert werden. Dagegen ist es schwieriger, in vivo dies zu zeigen, da hier den Transfer störende Faktoren wirksam werden. Als Mechanismus für die Hemmung der Plasmid-Übertragung kommen nach WIEDEMANN (1973) in Frage: anaerobe Verhältnisse, niedriger pH-Wert, Temperatur, Stoffwechselprodukte anderer Bakterien. Weiterhin spielt die physiologische Verfassung der Donator- und Akzeptor-Stämme eine Rolle.

I. R-Plasmid-Übertragung in vivo nach vorheriger chemotherapeutischer Beeinflußung der Darmflora

KASUYA (1964), GUINEE (1965), und REED et al. (1969) zeigten bei Mäusen, deren intestinale Flora durch vorherige Antibiotikafütterung reduziert worden war, daß ein Transfer von Resistenz-Plasmiden in vivo vorkommt. In solchen Mäusen siedelte sich der Donator- und Akzeptor-Stamm gut an und konnte sich im Darmtrakt vermehren. Die Übertragungs-Frequenz lag zwischen 10^{-3} und 10^{-5} pro Empfängerzelle, so daß die Frequenz der Resistenz-Übertragung in vivo annähernd der in vitro entsprach. WALTON (1966 a) benutzte für seine in-vivo-Versuche frisch ausgebrütete Kücken, die noch keine alimentäre bakterielle Flora hatten. Auch hier wiesen die Ergebnisse darauf hin, daß ein Transfer der Plasmide ebenso bereitwillig im Intestinaltrakt der Kücken wie in der Bouillon-Misch-Kultur vorkommt.

Einen anderen Versuch,der ebenfalls diesem Problem gewidmet war,beschrieb SMITH (1969).Die prinzipiell ansässigen E.coli-Stämme im Verdauungstrakt einer freiwilligen Versuchsperson wurden zwecks Identifikation charakterisiert.Im Verlauf des Experiments von 2 Jahren blieb die Keimflora konstant,enthielt keine R-Plasmide.Isolierte Kulturen waren jedoch fähig,R-Plasmide in vitro aufzunehmen.Dieser Freiwillige erhielt 18 verschiedene R-Plasmid-tragende E.coli-Stämme (Verabreichung erfolgte oral in Form von Brühe) zu verschiedenen Terminen während der 2-Jahres-Periode.Die E. coli-Stämme waren vom Schwein,Rind,Geflügel und menschlichen Ursprungs.In vitro konnten R-Plasmid-Übertragungen auf die im Darm ansässige Keimflora gezeigt werden.Die Untersuchungen der Faecalproben ergaben folgendes:Keiner der potentiellen Donatoren war fähig,sich im Darmtrakt permanent anzusiedeln.Einige Stämme tierischen Ursprungs konnten bei Verabreichung von mindestens $1o^{9}$ lebensfähigen Organismen aus den Faeces 1 bis 11 Tage lang reisoliert werden,dagegen konnten bei der geringeren Dosis von $1o^{6}$ lebensfähigen Organismen zu keinem Zeitpunkt diese Stämme entdeckt werden. Bei Donator-Stämmen menschlichen Ursprungs konnte eine Kolonisation über einen Monat beobachtet werden, jedoch mußten, um dieses zu ermöglichen, $1o^{9}$ lebensfähige Organismen aufgenommen worden sein.In Fällen,in denen temporäre Ansiedelung auftrat,fand der Transfer auf die ansässigen E.coli-Stämme mit äußerst geringen Frequenzen statt.

Nur 1 bis 1o Kolonien der ansässigen Stämme,die R-Plasmide aufgenommen hatten,konnten in den Untersuchungsproben entdeckt werden,allerdings nur nach Aufnahme von $1o^9$ lebensfähigen Organismen.Diese R-Plasmid-tragenden Stämme konnten jedoch nicht als ein Teil der E.coli-Mikroflora im Darm existieren.

II.R-Plasmid-Übertragung in vivo ohne vorherige chemotherapeutische Beeinflussung der Darmflora

SMITH (197o b)untersuchte die R-Plasmid-Übertragungsverhältnisse bei Kücken mit natürlicher Darmflora.Für die Konjugationsversuche dienten als Donatoren E.coli-Stämme und als Akzeptor Salmonella typhimurium.Diese Stämme wurden den Kücken oral in hohen Keimzahlen ($1o^7$-$1o^9$)verabreicht.Die Ergebnisse zeigten,daß R-Plasmid-Übertragungen auch unter natürlichen Gegebenheiten stattfanden,aber nur zwischen solchen Stämmen,die als gute Donatoren bzw. Akzeptoren bekannt waren (auf Grund der vorangegangenen in vitro-Untersuchungen) und die in der Lage waren,sich im Verdauungstrakt gut anzusiedeln.Die Gabe von Antibiotika in nutritiven Mengen während der Übertragungsversuche führte zu einem starken Anwachsen R-Plasmid-tragender Akzeptoren.JAROLEM et al.(1969) führten bei entwöhnten Schweinen R-Plasmid-Übertragungsversuche zwischen Stämmen der normalen Mikroflora der Schweine (= potentielle Donatoren) und oral gegebenen pathogenen Salmonella cholerasuis var.Kunzendorf-Stämmen (= Akzeptoren) durch.Die 7 - 8 Wochen alten Schweine wurden oral mit $1o^{1o}$- $1o^{11}$ Keimen/Tier infiziert.Nach erfolgter Infektion wurden Salmonellen

aus verschiedenen Organen isoliert und auf die Gegenwart von R-Plasmiden untersucht.R-Plasmid-Übertragungen konnten zwar festgestellt werden,waren jedoch ein seltenes Ereignis.Die R-Plasmid-Übertragung beim Menschen in vivo unter möglichst natürlichen Gegebenheiten untersuchten KNOTHE et al.(1973) . Zunächst wurde eine natürliche Kontamination mit einem mehrfach-resistenten R-Plasmid-tragenden Keim,der in einer Konzentration von 10 000/g Faeces auftrat,untersucht.Nach 10 Tagen war dieser Keim nicht mehr nachweisbar.Eine zweite Kontamination mit einer niedrigeren Keimzahl war schon zwei Tage später nicht mehr aufzufinden.Das deutet darauf hin,daß erstens keine Übertragung auf die permanente Flora stattfand und zweitens der R-Plasmid-tragende Stamm schnell eleminiert wurde.Um diese These zu erhärten,wurden drei Versuchspersonen mit einem fünffach-resistenten,R-Plasmid-tragenden E.coli-Wildtyp kontaminiert.Die Ergebnisse waren folgende:nach anfänglich starker Vermehrung und damit verbundenem Wachstum und Ansiedelung der Keime verminderten sich die Keimzahlen in den Faeces rasch.Nach 8 bis 19 Tagen war schließlich die Infektion beendet,d.h.die Bakterien wurden zusammen mit den R-Plasmiden eleminiert.Bei allen drei Versuchspersonen war praktisch keine Übertragung festzustellen.Lediglich bei einer Versuchsperson konnte an einem Tag das gleiche R-Plasmid in einem anderen E.coli festgestellt werden.R-Plasmid-Übertragungen sind demnach in vivo unter natürlichen Gegebenheiten derart stark gehemmt,daß sie nur in geringem Maße auftreten können.

5. Ist der Mensch durch R-Plasmid-tragende Bakterien tierischen Ursprungs gefährdet?

Da pathogene sowie apathogene Enterobacteriaceae, die Antibiotikaresistenz und R-Plasmide aufweisen, in Lebensmitteln vorkommen, diskutierten einige Untersucher (KAMPELMACHER ,1969 ;MOORHOUSE et al.,1969), daß diese Organismen den Menschen über Fleisch, Wurst, Milch oder andere tierische Produkte erreichen.

I. Die Bedeutung der pathogenen Enterobacteriaceae

Pathogene Bakterien wie z.B. Salmonellen traten in Lebensmitteln tierischen Ursprungs auf und verursachten zu hohem Prozentsatz lebensmittelbedingte Erkrankungen beim Menschen. Besonders Fleisch- und Ei-Produkte konnten für Krankheitsausbrüche verantwortlich gemacht werden (OYE,1964). Die landwirtschaftlichen Nutztiere können somit als Hauptreservoir der "Lebensmittelvergifter" Salmonella angesehen werden. Eine Anzahl von Veröffentlichungen zeigt, daß das Vorkommen Antibiotika-resistenter Salmonellen bei Tieren und Menschen während der Antibiotika-Ära angestiegen ist (MANTEN et al.,1971,PROCURULL,1971,PIETSCH et al., 1972,BULLING et al.,1973,SOJKA et al.,1972,1974). Da häufig Salmonellen bei erkrankten Tieren und Menschen gefunden wurden, wird kaum bezweifelt, daß Salmonellen eine Rolle spielen und daß die R-Plasmid-tragenden Organismen dieser Species besonders beachtenswert sind.

II. Die Bedeutung der apathogenen Enterobacteriaceae

Nutztiere als Reservoir für R-Plasmide können mit ihrer ortsansässigen, nicht-pathogenen jedoch resistenten E.coli-Darmflora eine Gefahrenquelle für den Menschen darstellen. Besonders E.coli-Stämme können relativ leicht als Donatoren oder Akzeptoren der R-Plasmide agieren. Den möglichen schrittweisen Ausbreitungsweg und die damit auftretenden Gefahren zeigten WELLS et al. (1973) auf: Antibiotika --> tierische Darmflora --> Antibiotika-resistente Coliforme mit R-Plasmiden im Tierdarm --> Aufnahme tierischer Produkte (z.B. Fleisch) durch den Menschen --> Antibiotika-resistente Coliforme beim Menschen (= R-Plasmid-Reservoir) --> Konjugation mit sensiblen Salmonellen/Shigellen --> Antibiotika-resistente, für den Menschen pathogene Bakterien. Die Gefahr ist also gegeben, daß Antibiotika-resistente Stämme tierischen Ursprungs den Verdauungstrakt des Menschen erreichen und dort ansässig werden und ihre R-Plasmide auf die vorhandene nicht-pathogene E.coli-Flora übertragen. Von dieser residenten Darmflora könnten R-Plasmide auf beliebige pathogene Enterobacteriaceae, mit welchen sich der Mensch infiziert, übertragen werden, und infolge der Resistenz könnten ernsthafte Therapieschwierigkeiten entstehen.

III. Verhalten der mit Lebensmitteln aufgenommenen resistenten Enterobacteriaceae im menschlichen Darmtrakt

Es bestehen uneinheitliche Auffassungen darüber, in

welchem Umfang eine Übertragung von R-Plasmiden zwischen Enterobacteriaceae tierischen Ursprungs und denen der Darmflora des Menschen stattfinden kann. Die Voraussetzung für den Transfer ist zunächst die Aufnahme einer genügend großen Keimmenge, deren Unversehrtheit nach der Magenpassage bzw. deren Ansiedelung im Darmtrakt. Untersuchungen ergaben, daß wenigstens 10^6 Donatoren-Stämme und 10^6 Akzeptoren-Stämme für eine Übertragungsfrequenz von 10^{-4} vorhanden sein müssen. Eine Übertragung von R-Plasmiden unter experimentellen Verhältnissen auf die ortsansässigen E.coli im Verdauungstrakt wurde gelegentlich bei Menschen beobachtet, die oral Bakterien-Kulturen aufgenommen hatten (SMITH, 1969). Die Häufigkeit des Transfers war, wenn überhaupt, sehr gering, und die wenigen Organismen, die R-Plasmide erhalten hatten, wurden schnell aus dem Verdauungstrakt eliminiert. Die Untersuchungen von KNOTHE et al. (1973), die unter natürlichen, vorgegebenen Verhältnissen stattfanden, ergaben praktisch keine R-Plasmid-Übertragung. FEIN et al. (1974) stellten sich die Frage, ob Enterobacteriaceae tierischen Ursprungs unter natürlichen Bedingungen den Menschen erreichen. Problematisch wurde die Verfolgung der E.coli-Stämme vom Tier zum Menschen. Eine genaue Differenzierung der Stämme war schwierig, da viele mit den verfügbaren Mitteln der Untersucher nicht zu typisieren waren. Da aber ungewöhnliche Resistenzmuster bei epidemiologischen Untersuchungen zur Identi-

fizierung beigetragen hatten,wurde von den Untersuchern konstatiert,daß spezifische Resistenz-Spektren indirekt eine Übertragung von Mikroorganismen und damit auch R-Plasmid-Übertragungen zwischen Tier und Mensch anzeigen können.E.coli-Stämme wurden von Menschen,die auf 14 verschiedenen Bauernhöfen tätig waren ,isoliert und mit den von ihrem Viehbestand isolierten Stämmen nach Ermittelung der Resistenz-Spektren verglichen. Nach statistischer Auswertung anhand der Resistenz-Spektren konnten enge Beziehungen zwischen den von Menschen und Tieren stammenden R-Plasmiden aufgezeigt werden,so daß angenommen wurde,daß Übertragungen vom Tier auf den Menschen stattgefunden hatten.SMITH (1974) zeigte Argumente für und wider auf,daß R-Plasmide tierischer Herkunft eine Gefahrenquelle für die menschliche Gesundheit darstellen könnten. Einige Aspekte seien hier genannt:

pro	contra
Tiere erhalten Antibiotika (Futterzusätze,Prophylaxe, Therapie),so daß R-Plasmid-tragende Coliforme selektiert werden	der Antibiotika-Einsatz beim Menschen ist viel größer als in Tier-populationen

pro	contra
Salmonellen werden vom Tier mit Fleisch auf den Menschen übertragen. Warum nicht auch E.coli? R-Plasmid-tragende E.coli wurden häufig auf dem Fleisch gefunden	Die E.coli-Keimzahlen sind relativ klein , besonders auf gekochtem Fleisch
R-Plasmide konnten experimentell von tierischen E. coli auf Coliforme im menschlichen Verdauungstrakt übertragen werden	Hohe Donatoren-Keimzahlen sind für die Besiedelung nötig. Ein Transfer (wenn überhaupt) findet nur mit sehr geringer Rate statt
Experimentell konnten bei Tieren R-Plasmide mit hoher Rate von E.coli auf Salmonellen übertragen werden	Gute Donatoren, gute Akzeptoren und gute Besiedler wurden benutzt
Ein höheres Vorkommen von R-Plasmiden wurde bei Tierpflegern und Küchenpersonal als bei der allgemeinen Bevölkerung gefunden.	Ein höheres Vorkommen von R-Plasmid-tragenden E.coli wurde bei Säuglingen und Vegetariern als bei erwachsenen Fleischessern gefunden.

Im allgemeinen haben Menschen mehr Kontakt mit allem anderen als mit Tieren oder ihren Produkten. R-Plasmid-tragende E.coli konnten zwar in Lebensmitteln nachgewiesen werden,die vorkommenden Keimzahlen,besonders in gekochten Gerichten,sind jedoch sehr gering, und kein direkter Beweis einer erfolgten Übertragung auf den Menschen ist erbracht worden.

IV.Verhalten der aufgenommenen resistenten Enterobacteriaceae im menschlichen Darmtrakt bei vorhandenem Selektionsdruck durch Chemotherapeutikaanwendung

HIRSCH et al.(1974) ermittelten die Wirkung verschiedener Dosen Tetracyclin auf die Besiedelung des menschlichen Intestinaltraktes mit Tetracyclin-resistenten E.coli tierischen Ursprungs (Tetracyclin wurde wegen der Anwendung sowohl im human- wie auch veterinärmedizinischen Bereich gewählt). 63 freiwillige Versuchspersonen im Alter von 21 - 50 Jahren wurden in 3 Gruppen unterteilt,die jeweils 1 000 mcg oder 50 mcg oder kein Tetracyclin (= Placebo) erhielten.Als Teststamm wurde ein mehrfach-resistenter,für Menschen apathogener E.coli bovinen Ursprungs gewählt.Die Untersucher benutzten zur Feststellung des Effekts von Tetracyclin auf die Besiedelung des Darmtraktes folgende Kriterien:

1.)Anteil der Keimmenge des Teststammes an der Gesamtkeimzahl der Coliformen in den Faeces:Bei Personen,die 1 000 mcg Tetracyclin aufgenommen hatten,war die Anzahl des Teststammes im Verhältnis zur Gesamtzahl der Coli-

formen bedeutend größer als bei denjenigen Personen,die kein Tetracyclin aufgenommen hatten. 2.) die Zeitspanne, in der der Teststamm in den Faeces gefunden wurde. Bei Personen,die 1ooo mcg Tetracyclin/die erhalten hatten, wurde der Teststamm über eine bedeutend längere Zeit ausgeschieden als bei den anderen. Aus diesen Ergebnissen ergab sich die Vermutung,daß die Besiedelung des Intestinaltraktes des Menschen durch Aufnahme größerer Mengen eines Chemotherapeutikums,gegen welches der E.coli-Stamm resistent war,durch Selektionsdruck potenziert wurde. Durch Antibiotikagaben können somit im Darm die für die R-Plasmid-Übertragung nötigen Donatoren-Keimzahlen geschaffen werden.

C. Eigene Untersuchungen

I. M a t e r i a l u n d M e t h o d i k

a. Material

Bakterienstämme:

Zur Untersuchung kamen verschiedene Enterobacteriaceae, die bei vorangegangenen Untersuchungen an Schlachttierkörpern und zerlegtem und zerkleinertem Fleisch isoliert worden waren (ÜLGEN,1976) und einige Stämme aus der Stammsammlung des Institutes für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes in Berlin* sowie aus der Fachrichtung Fleischhygiene der FU Berlin. Die taxonomische Einstufung und die Herkunft der untersuchten Enterobacteriaceae-Stämme ist aus Tabelle 1 ersichtlich. Die biochemische Überprüfung der verfügbaren Stämme ergab folgende Zusammenhänge des Stammkollektives: am stärksten war die Species E. coli (31%) vertreten, die zweitstärkste Gruppe war Enterobacter gefolgt von Klebsiella.

Der größte Anteil der untersuchten Stämme (118=47%) kam von Schweineschlachttierkörpern nach dem Schlachten, gefolgt von Schweineteilstücken nach dem Zerlegen (13%), sowie Hackfleisch vom Schwein (20%), so daß 80 % der Stämme vom Schwein stammten; die restlichen 20 % setzten sich aus Gefriergeflügel-Stämmen und Sammlungs-Stämmen zusammen.

Plasmid-tragende Stämme dienten als potentielle

---

* den Herren Prof.Dr.Bulling und Dr.Stephan sei für die Überlassung der Akzeptoren- und Vergleichsstämme vielmals gedankt

Tabelle 1

Herkunft der überprüften Enterobacteriaceae und Aufteilung in Species

Genus/Species	Schlacht-tierkörper a	Teilstücke (Schwein) b	Hackfleisch (Schwein) c	a+b+c	Gefrier-Geflügel**	Stamm-sammlun-gen*	Total	in%
E.coli	60	8	6	74	2	2	78	31,3
Klebsiella	15	11	14	45	2	3	45	18.0
Enterobacter	24	3	13	40	8	2	50	20,0
Hafnia	5	5	9	19	4	1	24	9,6
Proteus	8	-	-	9	4	1	13	5,2
Providencia	1	2	-	3	-	-	3	1,2
Citrobacter	3	3	2	8	4	3	15	6,0
Salmonella	2	-	-	2	2	10	14	5,6
Serratia	-	1	5	6	1	-	7	2,8
Summe	118	33	49	200	27	22	249	100,0
Summe in %	47,2	13,2	19,6	80,0	10,8	8,8		

*Bundesgesundheitsamt, Institut für Veterinärmedizin und Fachrichtung Fleischhygiene und -technolog. der FU-Berlin ; ** aus Untersuchungen von Prof.Götze

Donatoren.Akzeptor-Stämme waren E.coli K 12 Lactose-positiv und E.coli K 12 Lactose-negativ,Salmonella typhimurium,Lactose-negativ.Alle 3 Stämme waren gegenüber Nalidixinsäure resistent.Für die Colicin - prüfung wurde der Indikator-Stamm E.coli N X 185 benutzt *.

Nährmedien und Testsubstanzen:

Für die taxonomische Einstufung der verschiedenen Species mittels der "Bunten Reihe" wurden folgende Medien der Fa.Merck angewandt:Eisen-Zweizucker-Agar nach Kligler,Methylrot-Voges-Proskauer-Bouillon,Sulfid-Indol-Motility (SIM)-Medium,Simmons-Citrat-Agar, Harnstoff-Agar nach Christensen.Aus eigener Herstellung nach den üblichen Rezepten stammten:Lysindecarboxylase-Medium,Dulcit-Bouillon und Gelatine-Medium.

Zur Bestimmung der Resistenzspektren wurden Antibiotika-Sulfonamid-Sensibilitäts-Agar = ASS (Merck) und Sensitest-Agar (Oxoid) benutzt.

Die Stämme wurden in Hochschicht-Agar (0,6 %iger Standard-II-Nähragar mit 0,12% Fleischextrakt) im Kühlschrank aufbewahrt.

Für die Colicinprüfung wurde Standard-II-Nähragar (Merck),zum Überschichten Feuchtagar aus Standard-II-Nährbouillon mit 0,6 % Agar und 0,1 % Glucose verwendet.

Für die R-Plasmid-Übertragungen kamen Standard-II-Nährbouillon (Merck),GASSNER-Agar (Wasserblau-Meta-

chromgelb-Lactose-Agar) (Merck) mit entsprechendem Antibiotikazusatz und Zusatz von 50 mcg/ml Nalidixinsäure zur Anwendung.

Die Arzneimittelwirkstoffe stammten von den Firmen: SERVA,Feinbiochemica,Heidelberg;BAYER,Leverkusen; CALBIOCHEM,Los Angeles;BOEHRINGER,Mannheim;HOFFMANN-LA-ROCHE AG,Grenzach;PARKE DAVIES,München.

Die 3 Antibiotika-Teststerne (Nr. 4946,Nr. 774155, Nr. 4743 E)der Fa. Oxoid enthielten folgende Chemotherapeutika:Chloramphenicol (C) 10 mcg,Oxytetracyclin (T) 10 mcg,Streptomycin (S) 10 mcg,Kanamycin (K) 10 mcg,Gentamycin (CN) 5 und 10 mcg,Tetracyclin (TE) 30 und 50 mcg,Cephaloridin (CR) 25 mcg,Colistinsulfat (CT) 10 mcg,Sulfafurazol (G) 500 mcg,Ampicillin (PN) 10 und 25 mcg,Carbenicillin (PY) 100 mcg,Sulfamethoxazol/Trimethoprim (SXT) 25 mcg,Chloramphenicol (C) 30 mcg,Furazolidon (FR) 30 mcg,Kanamycin (K) 30 mcg,Nitrofurazon (FC) 100 mcg,Trimethoprim (W) 5 mcg.

Für die Keimzahlbestimmungen des Fleisches und der Donatoren-Stämme wurde als Verdünnungsmedium "Drop"-Lösung (0,75 g Agar-Agar, 8,5 g NaCl,1g Caseinpepton in 1 l demin.Wasser bei 121°C 15 Minuten autoklaviert) benutzt,als festes Medium diente Pepton-Fleischextrakt-Hefeextrakt-Glukose-Agar.Als flüssiges Kulturmedium wurde Standard-I-Bouillon (Merck) verwendet.Zur Prüfung des Fleisches auf Hemmstoffe wurde Antibiotic Medium No 1 (Oxoid,Code CM 327) zur Plattenherstellung benutzt.

Fleisch als Prüfsubstrat:

Der M.longissimus dorsi wurde von Schweinen,die auf dem Schlacht- und Viehhof Berlin Spandau geschlachtet worden waren,steril entnommen und,sofern erforderlich, mit Hilfe eines Haushaltsmixers steril zerkleinert.

Technische Geräte:

Die pH-Wert-Ermittelung erfolgte mit einem elektrischen pH-Meter der Fa.Knick,Berlin 37.

Zur groben Zerkleinerung des Fleisches wurde ein Haushaltsmixer der Fa.Braun benutzt.

Zur Homogenisierung der Fleischproben wurde ein "Ultra Turrax" der Fa.Jahnke und Kunkel KG,Staufen i.Br., verwendet.

Für die Temperaturversuche wurden Wasserbäder der Fa. Köttermann KG,Hänlasen,Ultrathermostate der Fa.Gebr. Haake,Berlin,mit Tauchkühler der Fa.Colora-Meßtechnik GmbH Lorch/Württ. und Kühlbrutschränke der Fa.Memmert, Schwabach,benutzt.

Zum Aufschütteln von Bouillon und anderen Flüssigkeiten diente ein Whirl-Mix der Fa.Cenco,Breda,Niederlande.

Die photometrischen Messungen wurden mit einem Eppendorf-Photometer durchgeführt.

Zur Bestimmung des Gehaltes an auspreßbarem Wasser im Fleisch wurden ein Kompressorium,das unter dem Namen "Braunschweiger Gerät" (ROEMMELE et al.,1961) bekannt ist,und Fließpapier der Fa.Schleicher und Schüll Nr.1117 benutzt.

Die Tupfer wurden aus Watte und Holzstäbchen selber

hergestellt und anschließend autoklaviert.

b.Methodik

Zur Charakterisierung des Fleisches als Prüfsubstrat wurden folgende Methoden nach bekannter Vorschrift angewendet: Zu der Gesamtkeimzahlbestimmung wurden 10 g Fleisch grob zerkleinert und in Homogenisiergefäße verbracht,dazu wurden 90 ml Drop-Lösung gewogen, danach erfolgte die Homogenisierung 15 sec. lang mit 20 000 U/min. .Nach Anlegen einer Verdünnungsreihe mit Drop-Lösung wuren im "Drop-Plating-Verfahren" die Verdünnungsstufen 10^{-1} - 10^{-4} auf Platten getropft und bei 37°C 24 Stunden bebrütet (REUTER,1968). Die Keimzahlbestimmung bei der Wachstumsüberprüfung der Donatoren-Stämme erfolgte ebenfalls nach diesem Verfahren.Die pH-Wert-Ermittelung erfolgte in der Tiefe der Muskulatur.Zur Bestimmung des Gehaltes an auspreßbarem Wasser wurden ca 300 mg Fleisch tief aus der Muskulatur entnommen und im "Braunschweiger Gerät" komprimiert.Nach 5 Minuten erfolgte die Ablesung,indem der durch die Fleischflüssigkeit gebildete Hof ausgemessen wurde.Die Untersuchung auf Hemmstoffe wurde nach den Vorschriften der Anlage 4 zu § 20 AB.A zum Fleischbeschaugesetz durchgeführt.
Die Identifizierung von Species erfolgte durch die Festellung von 14 biochemischen Reaktionen in der "Bunten Reihe":Glucose-,Lactose- und Saccharose-Fermentation,Schwefelwasserstoff- und Gasbildung,Abbau

von Lysin,Säure- und Indolbildung,Motilität bei 37° und 22°C im Gelatinestich und bei 37°C im SIM-Medium, Gelatinase-Vorkommen,Wachstum bei Verwendung von Citrat als einzige Kohlenstoffquelle,Dulcit-Fermentation,Urease-Aktivität.

Qualitative Resistenzbestimmung:

Von einer Reinkultur wurden jeweils 5 - 10 Kolonien in Bouillon-Röhrchen gegeben und 24 Stunden bei 37°C bebrütet.Danach erfolgte die Verdünnung eines Tropfens in 10 ml physiologischer NaCl-Lösung und Ausspatelung von 0,1 ml dieser Suspension auf"Antibiotika-Sulfonamid"- bzw."Sensitest"-Agar.Anschließend wurden die Teststerne aufgelegt,die Platten wurden ca 2 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt,danach erfolgte die Bebrütung für 18 Stunden bei 37°C.Als resistent wurden die Stämme angesehen,bei denen der Hemmhof kleiner als 1 mm war. Im Zweifelsfalle wurden die Stämme auf Antibiotika-haltige Platten ausgestrichen,denen die gleiche Antibiotikamenge/ml eingemischt worden war,wie sie in der fraglichen Noppe des Teststernes vorhanden war.Erfolgte kein Wachstum,wurden die Stämme als sensibel angesehen. Bis zu weiteren Untersuchungen wurden die Stämme bei 4°C aufbewahrt.

R-Plasmid-Nachweis

Die zu prüfenden resistenten Stämme wurden auf Antibiotika-haltige GASSNER-Platten überimpft(siehe Abbildung a und Tabelle 2).Um Segregation (WALTON et al., 1967) auszuschalten,wurde jede Resistenzdeterminante

Abbildung a

R-Plasmid-Nachweis :Untersuchungsvorgang zur Auffindung R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae

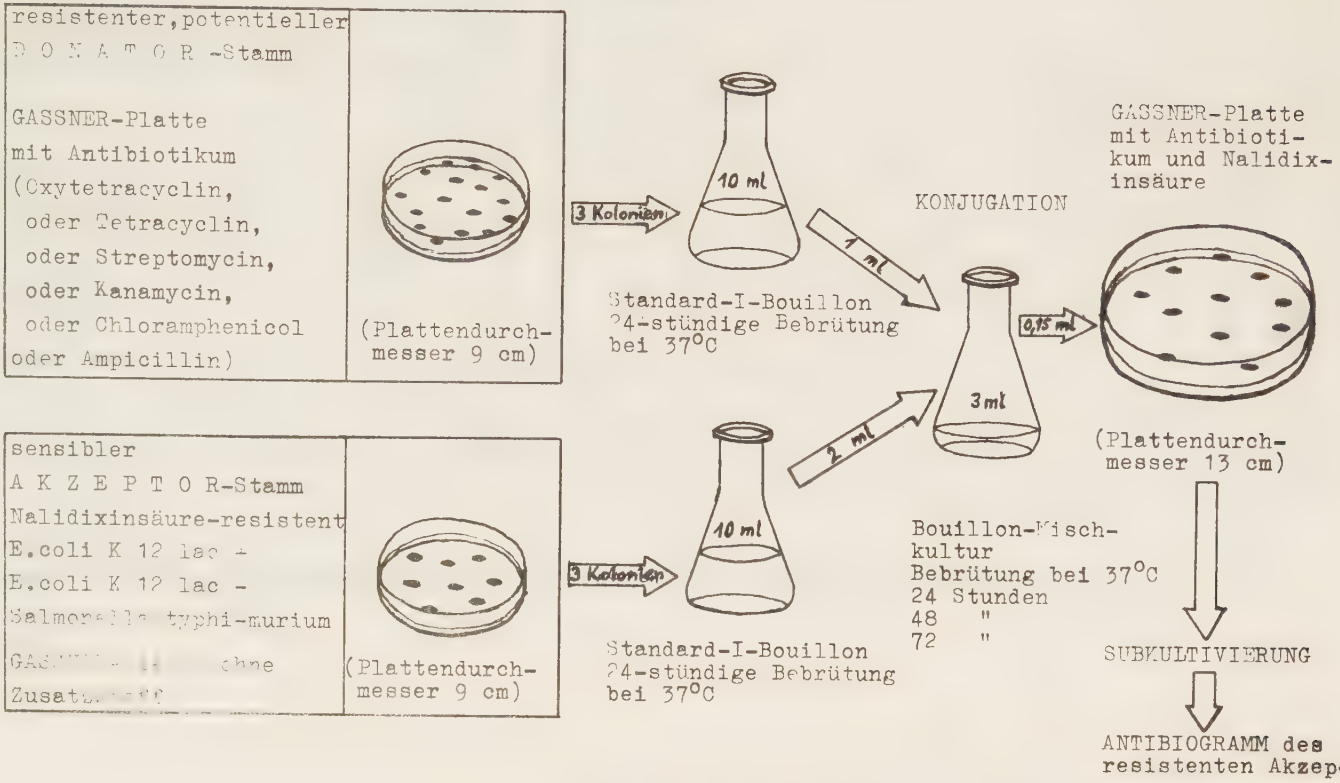

Tabelle 2

Methodik der R-Plasmid-Übertragungen in verschiedenen Medien bei unterschiedlichen Temperaturen

R-Plasmid-Übertragung in den Konjugationsmedien		Keimmenge aus 24-stündiger Bouillon-Kultur des Donators	Keimmenge aus 24-stündiger Bouillon-Kultur des Akzeptors	Konjugationstemperatur in °C	Konjugationszeit in Tagen	Anzahl d. Donatoren
Auffindung der R-Plasmide**	Bouillon	1 ml	2 ml	37	1,2,3	249
Temperatureinfluß		1 ml	2 ml	30,22,15,10,4	1	36
Frequenzbestimmung		1 ml	2 ml	37 4	1 Stunde	36
in zerkleinertem Schweine-		1 ml	2 ml	22 10	1,2 (1.Vers.)	36
		1 ml	2 ml	4	1,2, 4 (2. +3.")	36
fleisch		1 ml	2 ml*	4	1,2, 4 (4. ")	36
		0,1ml	0,2ml	4	1,2, 4 (5. ")	36
auf der Fleischoberfläche (1. Versuchsanordnung)		1 Kolonie in NaCl-Lsg	1 Kolonie in NaCl-Lsg	37, 22,15,10,4	1,2, 4	36
(2.Versuchsanordnung)		5 ml	5 ml	10	1,2, 4	36
(3.Versuchsanordnung)		Zentrifugat	Zentrifugat	10,4	1,2, 4	36

* die Bouillon-Kultur wurde bei 4°C 1 Stunde gekühlt, danach erfolgte die Konjugation ebenfalls bei 4°C

** Untersuchungsreihe I,II,III Vers. = Versuch

eines Stammes berücksichtigt,indem die den R-Determinanten entsprechenden Antibiotika dem Selektivmedium beigemischt wurden.Danach erfolgte Abimpfung von 1 Kolonie in Bouillon und 24-stündige Bebrütung bei 37°C, dazu kam eine geeignete Menge einer 24-stündigen Bouillon des Nalidixinsäure-resistenten Akzeptor-Stammes E.coli K 12,Lactose-positiv bzw. E.coli K 12,Lactose-negativ.Von der Mischkultur wurden nach weiteren 24 Stunden bei 37°C jeweils 0,15 ml auf Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltigen GASSNER-Agar ausgespatelt.Hierbei wurde ebenfalls für jede Determinante eine entsprechende Platte benutzt.Die Platten wurden 24 Stunden bei 37°C bebrütet.Erfolgte kein Wachstum,wurden nach 48- bzw.72-stündiger Bebrütung des Donator-Akzeptor-Gemisches erneut 0,15 ml ausgespatelt.Bei Wachstum wurde 1 Kolonie des resistent gewordenen Klones von E.coli K 12 auf die entsprechenden Antibiotika-haltigen GASSNER-Platten überimpft,und schließlich wurde das Antibiogramm ermittelt.

Bei den R-Plasmid-Übertragungsversuchen mit Salmonella typhimurium als Akzeptor wurde in der gleichen Weise verfahren.

Die R-Plasmid-Übertragungs-Untersuchungsreihen zwischen Enterobacteriaceae hatten folgende Versuchsanordnung:

Untersuchungsreihe I:

Als Akzeptoren dienten E.coli K 12 lac+ bzw. E.coli K 12 lac-;die Übertragbarkeit von Plasmiden,die Oxytetracyclin-,Streptomycin-,Kanamycin-,Chloramphenicol-

Resistenz vermitteln,wurde geprüft.

Untersuchungsreihe II :

Als Akzeptoren agierten E.coli K 12 lac+ bzw. E.coli 12 lac-;die Übertragbarkeit von Plasmiden,die Tetracyclin-,Kanamycin-,Ampicillin-,(Furazolidon-) Resistenz vermitteln,wurde überprüft.

Untersuchungsreihe III :

Der Akzeptor war Salmonella typhimurium lac-;die Übertragbarkeit von Plasmiden,die Tetracyclin,Streptomycin-, Kanamycin-,Chloramphenicol-,Ampicillin-,(Furazolidon-) Resistenz vermitteln,wurde festgestellt.

Nach diesen Untersuchungen wurden für die weiteren Experimente,die sich auf Frequenzprüfung und Konjugationsversuchen bei niedrigen Temperaturen in und auf Fleisch erstreckten,36 potentielle Donator-Stämme ausgewählt,die folgende Species-Zugehörigkeit bzw. Herkunft hatten:

Herkunft und Species-Zugehörigkeit der 26 Donatoren

	E.coli	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia	Proteus	Salmonella	Summe
Schlachttierkörper	17	3	-	-	1	-	21
Teilstücke (Schw.)	4	2	1	-	-	-	7
Hackfleisch (Schw.)	1	3	-	1	-	-	5
Stammsammlung	1	-	-	-	-	2	3
Summe	23	8	1	1	1	2	36

Frequenz der R-Plasmid-Übertragung

Die Untersuchungen erfolgten bei 37°C und 4°C. Zum Zwecke der Konjugation wurden jeweils 1 bzw. 2 ml einer 24-stündigen Akzeptor- bzw. Donator-Bouillon zum Temperaturausgleich 1 Stunde den angegebenen Prüftemperaturen ausgesetzt, danach gemischt und 60 Minuten bei der entsprechenden Temperatur gehalten. Vor Konjugationsbeginn wurde die Donator-Keimzahl mittels eines quantitativen Kulturverfahrens in bereits beschriebener Weise auf GASSNER-Agar festgestellt. Nach 1-stündiger Konjugation wurden vom Donator-Akzeptor-Gemisch Verdünnungsstufen von 10^{0} bis 10^{-4} auf Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltige Platten ausgespatelt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet; anschließend wurden die resistent gewordenen Akzeptoren ausgezählt. Die erhaltenen Werte ermöglichten in etwa die zahlenmäßige Angabe der erfolgten R-Plasmid-Übertragungen, bezogen auf 1 Donator-Zelle. Die Untersuchungen wurden zur Frequenzbestimmung bei 37°C viermal und bei 4°C dreimal wiederholt.

Der Frage, ob R-Plasmid-Übertragungen auf den Selektivmedien (=Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltige GASSNER-Platten) während der 24-stündigen Bebrütung stattfinden können, wurde wie folgt nachgegangen: je 0,1 ml einer 24-stündigen Donator- und einer 24-stündigen Akzeptor-Bouillon wurden auf Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltigen Platten aufgetropft und sofort mit einem Spatel vermischt, danach bei 37°C 24 Stunden lang bebrütet.

R-Plasmid-Übertragungen bei verschiedenen Temperaturen in Nährbouillon

Die Untersuchungen erfolgten mit den 36 Donatoren und den E.coli K 12 -Akzeptoren in den Temperaturbereichen 30,22,15,10 und 4°C.Zwecks Konjugation wurde wie zuvor verfahren.Jeweils 1 ml einer 24-stündigen Donator- und 2 ml einer 24-stündigen Akzeptor-Bouillon wurden zum Temperaturausgleich den oben angegebenen Temperaturen 1 Stunde lang ausgesetzt,danach gemischt und 24 Stunden weiterhin diesen Temperaturen ausgesetzt. Danach erfolgte Ausspatelung von 0,1 ml auf Selektiv-Nährböden mit Antibiotika- und Nalidixinsäure-Zusatz.Die Ermittlung der resistent gewordenen Akzeptoren erfolgte in der zuvor beschriebenen Weise.Die Untersuchungen wurden bei 22°C zweimal,bei 15°C dreimal,bei 10°C viermal und bei 4°C einmal durchgeführt.

Zur Prüfung der Frage,ob im zerkleinerten Schweinefleisch Resistenz-vermittelnde R-Plasmide von den 36 ausgewählten Donatoren auf E.coli-Akzeptoren übertragen werden können,wurden die Untersuchungen in den Temperaturbereichen 22,10 und 4°C fogendermaßen durchgeführt:

1.Versuch

Das zerkleinerte Schweinefleisch wurde in Portionen zu 50 g aufgeteilt und mit 1 ml einer 24-stündigen Donator- und 2 ml einer 24-stündigen Akzeptor-Bouillon vermischt und bei 22°C gelagert.Nach 24 und 48 Stunden wurden jeweils 10 g Fleisch den Proben entnommen und

mit 90 ml Verdünnungs-Lösung homogenisiert.Davon wurden für jede Determinante 5 ml Flüssigkeit in Petrischalen mit 13 cm Durchmesser gegeben und mit entsprechendem Nalidixinsäure- und Antibiotika-haltigen GASSNER-Nährboden übergossen und gleichmäßig vermischt.Nach 24 Stunden bei 37°C erfolgte die Ermittlung der resistent gewordenen Akzeptoren.

2.Versuch:

Das zerkleinerte Schweinefleisch wurde in 50 g Portionen aufgeteilt und mit 1 ml einer 24-stündigen Donator- und 2 ml einer 24-stündigen Akzeptor-Bouillon vermischt. In diesem Versuch wurden das Fleisch,Donator- und Akzeptor-Bouillon noch nicht vorgekühlt,sondern die Vermischung erfolgte mit 22°C warmer Bouillon und ebenso temperiertem Fleisch bei Zimmertemperatur.Die Fleischproben wurden dann bei 10°C gelagert.Der weitere Versuchsablauf war wie beim ersten Versuch.

3.Versuch:

Der Versuchsablauf gestaltete sich ähnlich wie beim 2.Versuch.Die Lagertemperatur betrug hier aber 4°C, und es erfolgte dreimalige Probenentnahme nach 24,48 und 96 Stunden.

4.Versuch:

In diesem Versuch wurde der 3.Versuch insofern modifiziert,als das Fleisch und die Bouillon vor dem Einmischen gekühlt wurden (Temperaturausgleich 1 Stunde), so daß bei Versuchsbeginn die Lagertemperatur von 4°C in Bouillon und Fleisch schon erreicht war.

5.Versuch:

Bei diesem Versuch wurde eine geringere Bouillonmenge in das Fleisch eingemischt: 0,1 ml einer 24-stündigen Donator-Bouillon wurde mit 0,9 ml "Drop-Lösung" suspendiert und 0,2 ml Akzeptor-Bouillon mit 1,8 ml "Drop-Lösung".Die "Drop-Lösung" wurde zugesetzt, um im Fleisch eine bessere Verteilung zu gewährleisten. Beide Flüssigkeiten sowie das Fleisch wurden vor dem Mischen 4 Stunden im Kühlschrank zum Zwecke des Temperaturausgleiches gelagert.Der Einmischvorgang selbst wurde innerhalb weniger Minuten erledigt.Die Lager-Temperatur betrug 4°C.Der weitere Versuchsablauf war wie im 4.Versuch.

Prüfung der Übertragung von R-Plasmiden auf der Fleischoberfläche

Zur Prüfung der Frage,ob auf der Fleischoberfläche Resistenz-vermittelnde Plasmide von den 36 Donatoren auf E.coli-Akzeptoren übertragen werden können,wurden Untersuchungen bei 5 verschiedenen Temperaturen angestellt.Die Temperaturbereiche waren:37,22,15,10 und 4°C.Die Fleischoberfläche,auf die die Keime verbracht wurden,betrug 4 cm^2.

1.Versuchsanordnung:

1 Kolonie des Donators und 1 Kolonie des Akzeptors (Abimpfung erfolgte von GASSNER-Platten,die 24 Stunden bei 37°C bebrütet worden waren)wurden jeweils in 1ml 0,8 %ige NaCl-Lösung gegeben(=geringe Keimmenge) und zum Temperaturausgleich den entsprechenden Temperatu-

ren 1 Stunde lang ausgesetzt,ebenso wurde das Fleisch eingestellt.Danach wurden die Flüssigkeiten mit Hilfe eines Watteträgers auf die Fleischstücke aufgetragen und diese wurden bei den entsprechenden Temperaturen 24 Stunden gelagert.Mit 0,8 %-iger NaCl-Lösung angefeuchtete Tupfer wurde dann über die Fleischoberfläche gestrichen;diese Tupfer wurden dann auf entsprechende Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltige GASSNER-Platten (Plattendurchmesser 13 cm) ausgestrichen und 48 Stunden bei 37°C bebrütet,danach erfolgte die Ermittlung resistent gewordener Akzeptoren.

2.Versuchsanordnung:

Die Untersuchung erfolgte im Temperaturbereich 10°C. Die auf die Fleischoberfläche aufgetragene Keimmenge wurde erhöht.5 ml Nährbouillon wurden mit 1 Kolonie des Donators bzw.Akzeptors beimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet (= mittlere Keimmenge) und danach mit Hilfe von Watteträgern auf die Fleischoberfläche verbracht. Weiterer Versuchsablauf wie beim 1.Versuch.

3.Versuchsanordnung:

Die auf die Fleischoberfläche aufgetragene Keimmenge wurde weiter erhöht.Die Untersuchung erfolgte in den Temperaturbereichen 10 und 4°C. 9 ml Nährbouillon wurden mit 1 Kolonie des jeweiligen Donators beimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet.Danach wurden 6 ml in Zentrifugenröhrchen umgefüllt und 30 min. bei 5 000 Umdrehungen zentrifugiert.Der Überstand wurde vollständig dekantiert und der Bodensatz mit 1 ml physio-

logischer Kochsalzlösung suspendiert.Auf dieselbe Weise wurde mit den Akzeptoren verfahren (= hohe Keimmenge).Nach 1-stündiger Vorkühlung der Flüssigkeiten und des Fleisches wurden die Donatoren bzw.Akzeptoren mit Hilfe von Watteträgern auf die Fleischoberfläche aufgetragen.Weiteres Verfahren wie bei der 1.Versuchsanordnung.

Wachstumsprüfung der Donatorstämme bei niedrigen Temperaturen:

Die Wachstumsprüfung von 36 Donatoren-Stämmen bei niedrigen Temperaturen wurde wie folgt durchgeführt: von Nähragar-Platten wurde 1 Kolonie des jeweils zu prüfenden Stammes in 9 ml vorgekühlte Bouillon gegeben und sofort in Wasserbäder mit den entsprechenden Temperaturen 8,6,4 und 2°C gestellt.In 2-tägigen Intervallen wurde die Bouillon-Trübung mittels EPPENDORF-Photometer bei einer Wellenlänge λ =578 nm photometrisch festgestellt (REIS et al.,1958;HEIN et al.,1961).

Ermittlung eines Bewertungsmaßstabes:Von jedem zu untersuchenden Stamm wurde zunächst eine gut bewachsene 24-Stunden-Bouillon in geometrischer Reihe verdünnt und photometriert.Verdünnungsstufen: 0,1:2,1:4,1:8, 1:16,1:32,1:64,1:128,1:256,1:512,1:1024. Die letzte gemessene Verdünnungsstufe wurde weiter mit Verdünnungs-Lösung in Zehnerpotenzen bis 10^{-8} verdünnt und jeweils 0,1 ml der Verdünnungen wurden auf Platten ausgespatelt und nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C ausgewertet. Dabei konnte für jede Extinktion die dazugehörige Keim-

zahl ermittelt werden,so daß die sich ergebenden Kurven als Bewertungsmaßstab für das Wachstum herangezogen werden konnten.

II. E r g e b n i s s e

1. Häufigkeit von Mono- und Multiresistenzen und Anteil sensibler Stämme

Die Überprüfung der zuvor taxonomisch eingestuften Enterobacteriaceae auf ihre Resistenz gegen Chemotherapeutika brachte die in Tabelle 3 dargestellten Ergebnisse unter Berücksichtigung folgender Antibiotika bzw. Chemotherapeutika: Tetracyclin (TE) 10 mcg, Streptomycin (S) 10 mcg, Kanamycin (K) 30 mcg, Chloramphenicol (C) 30 mcg, Ampicillin (PN) 10 mcg, Carbenicillin (PY) 100 mcg, Cephaloridin (CR) 25 mcg, Colistinsulfat (CT) 10 mcg, Furazolidon (FR) 50 mcg, Sulfafurazol (G) 500 mcg, Sulfamethoxazol/Trimethoprim (SXT) 25 mcg, Gentamycin (CN) 10 mcg, Trimethoprim (W) 5 mcg. Danach waren 42 Stämme sensibel, 70 Stämme einfachresistent und 137 Stämme mehrfachresistent. Fünf- oder gar sechs-fachresistente Stämme konnten nur selten ermittelt werden. Eine Unterteilung dieses Stamm-Kollektives in drei große Gruppen, und zwar in mono-, multiresistente und sensible Stämme ist aus der Tabelle 4 ersichtlich.

Eine Aufteilung der Zahl resistenter Stämme nach Specieszugehörigkeit ist in Tabelle 5 vorgenommen worden. Der geringe Prozentsatz bei Salmonella- und Serratia-Stämmen ist nicht unbedingt aussagekräftig, da die Ausgangszahl niedrig lag. Auffallend ist aber die fast 100 %-ige Resistenz bei E. coli und Citrobacter.

Tabelle 3

Resistente und sensible Enterobacteriaceae nach Speciszugehörigkeit

	I	II	III	IV	V	VI	Sen.	Summe
E.coli	19	27	18	10	2		2	78
Klebsiella	20	5	7	3		1	9	45
Enterobacter	10	24	3	1			12	50
Hafnia	11	4	2				7	24
Proteus	2	1	5	4	3		1	16
Citrobacter	5	6	3	1				15
Salmonella	3	1			1	1	8	14
Serratia			2	2			3	7
Summe	70	68	40	21	6	2	42	249

I-VI = Anzahl der R-Determinanten; Sen. = Sensibilität

Tabelle 4

Anzahl der Stämme	Determinantenzahl		sensible Stämme
	I	II- VI	
249	70	137	42
100 %	28,1 %	55 %	16,9 %

Tabelle 5

Anzahl (n) der untersuchten Bakterienstämme und Vorkommen der Resistenz (R)

Species	n	R	%
E.coli	78	76	97,4
Klebsiella	45	36	80,0
Enterobacter	50	38	76,0
Hafnia	24	17	70,8
Proteus	16	15	93,8
Citrobacter	15	15	100
Salmonella	14	6	43
Serratia	7	4	57
Summe	249	207	83

2.Beziehungen zwischen Herkunft und Resistenz der geprüften Enterobacteriaceae-Species

Tabelle 6 gibt Auskunft über den prozentualen Anteil der resistenten Stämme,aufgeschlüsselt nach deren Specieszugehörigkeit und Herkunft:danach waren 97 % der vom Schweineschlachttierkörper,76 % der von Schweine-Teilstücken und 84 % der vom Schweine-Hackfleisch stammenden Enterobacteriaceae resistent. Die insgesamt 22 Stämme aus den Stammsammlungen waren zu 82 % resistent.Dagegen waren nur 30 % der Gefrier-Geflügel-Stämme resistent.

3.Häufigkeit einzelner Resistenz-Determinanten und bestimmter Resistenzmuster mit Aufteilung auf einzelne Species

Ein Überblick über die Verteilung und Häufigkeit der Resistenz-Determinanten bei den verschiedenen Species ist in Tabelle 7 aufgezeigt.Die Tetracyclin-Monoresistenz kam unter einfachresistenten Stämmen am häufigsten vor,es waren rund 25 % der resistenten Stämme gegenüber diesem Antibiotikum unempfindlich. Unter den zweifachresistenten Stämmen war die häufigste Kombination Tetracyclin/Streptomycin-Resistenz,gefolgt von Streptomycin/Cephaloridin- und Tetracyclin/Sulfafurazol-Resistenz.Unter den dreifachresistenten Stämmen war die häufigste Kombination Tetracyclin/Streptomycin/Sulfafurazol-Resistenz.Unter den vierfachresistenten Stämmen dominierte die Kombination Tetracyclin/Streptomycin/Sulfafurazol/Chloramphenicol-Resistenz.

Tabelle 6

Aufteilung der resistenten Stämme nach Specieszugehörigkeit und nach Herkunft

Quelle / Species	E.coli	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia	Proteus	Citrobacter	Salmonella	Serratia	R	n	R in %
Schlachttier-körper (Schwein)	59	15	23	5	9	3	1	–	115	118	97
Teilstücke (Schwein)	8	7	3	2	1	3	–	1	25	33	76
Hackfleisch (Schwein)	6	13	10	8	–	2	–	3	41	49	84
Gefriergeflügel	2	–	1	1	–	4	–	–	8	27	30
Stammsammlungen	1	2	1	1	5	3	5	–	18	22	82

Tabelle 7 a

Häufigkeit einzelner Resistenz-Determinanten und bestimmter Resistenzmuster mit Aufteilung nach einzelnen Species

Resistenzdeterminanten	E.coli	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia	Proteus	Citrobacter	Salmonella	Serratia	Summe	Summe in % von 207 Stämmen
TE	15	18	3	7	1	-	3	-	51	24,6
S	2	-	-	1	-	-	-	-	3	
G	2	-	2	-	-	-	-	-	4	
PN	-	1	1	-	-	-	-	-	2	
CR	-	1	4	3	1	3	-	-	12	5,8
K	-	-	-	-	-	2	-	-	2	
TE S	14	2	5	2	-	-	1	-	24	11,5
TE G	9	1	1	-	-	-	-	-	11	5,3
TE PN	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
TE CR	1	-	3	-	-	-	-	-	4	
TE CT	-	-	-	-	-	1	-	-	1	
S G	3	-	-	-	-	-	-	-	3	
S CR	-	-	2	-	-	2	-	-	4	
G CR	-	-	8	2	-	2	-	-	12	5,8
G K	-	-	-	-	-	1	-	-	1	
G PY	-	1	1	-	-	-	-	-	2	
PN PY	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
PN CR	-	-	4	-	-	-	-	-	4	

TE = Tetracyclin 10 mcg, S = Streptomycin 10 mcg, G = Sulfafurazol 500 mcg, PN = Ampicillin 10 mcg, CR = Cephaloridin 25 mcg, K = Kanamycin 30 mcg, CT = Colistinsulfat 10 mcg
PY = Carbenicillin 100 mcg

Tabelle 7 b

Häufigkeit einzelner Resistenz-Determinanten und bestimmter Resistenzmuster mit Aufteilung nach einzelnen Species

Resistenzdeterminanten	E.coli	Klebsiella	Enterobacter	Hafnia	Proteus	Citrobacter	Salmonella	Serratia	Summe	Summe in % von 207 Stämmen
TE S G	13	4	-	1	-	1	-	-	19	9,2
TE S PN	1	1	-	-	-	-	-	-	2	
TE S CR	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
TE PN CR	-	-	1	-	-	-	-	-	1	
TE S CT	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
TE CR CT	-	-	-	-	2	-	-	-	2	
TE G CR	-	1	2	-	-	-	-	-	3	
TE G C	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
TE S K	-	-	-	-	-	1	-	-	1	
TE CT FR	-	-	-	-	2	-	-	-	2	
TE PN PY	2	-	-	-	-	-	-	-	2	
G CR CT	-	-	-	1	1	-	-	-	2	
S G CR	-	-	-	-	-	1	-	-	1	
S PN CR	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
TE S FR	1	-	-	-	-	-	-	-	1	

TE = Tetracyclin 10 mcg, S = Streptomycin 10 mcg, G = Sulfafurazol 500 mcg, PN = Ampicillin 10 mcg, CR = Cephaloridin 25 mcg, K = Kanamycin 30 mcg, CT = Colistinsulfat 10 mcg
PY = Carbenicillin 100 mcg, FR = Furazolidon 50 mcg, C = Chloramphenicol 30 mcg

Tabelle 7 c

Häufigkeit einzelner Resistenz-Determinanten und bestimmter Resistenzmuster mit Aufteilung nach einzelnen Species

Resistenzdeterminanten	E.coli	Klebsiella	Enterobacter	Proteus	Citrobacter	Salmonella	Serratia	Summe	Summe in % von 207 Stämmen
TE S G FR	2	-	-	-	-	-	-	2	
TE S G C	6	1	-	-	-	-	-	7	3,4
TE G PN PY	1	-	-	-	-	-	-	1	
S G C PN	1	-	-	-	-	-	-	1	
FR PN CR CT	-	-	-	2	-	-	-	2	
TE FR PN CT	-	-	-	1	-	-	-	1	
G FR CR CT	-	-	-	1	-	-	-	1	
TE S PN CR	-	-	-	-	-	-	2	2	
S G PN CR	-	-	1	-	-	-	-	1	
TE S CR SXT	-	1	-	-	-	-	-	1	
TE S G CR	-	-	-	-	1	-	-	1	
TE S FR CT	-	1	-	-	-	-	-	1	
TE S G PN PY	1	-	-	-	-	1	-	2	
TE G FR PN PY	1	-	-	-	-	-	-	1	
TE G PN CR CT	-	-	-	1	-	-	-	1	
TE S G CR CT	-	-	-	1	-	-	-	1	
TE FR PN CR CT	-	-	-	1	-	-	-	1	
TE S G FR C CR	-	1	-	-	-	-	-	1	
S G C PN PY K	-	-	-	-	-	1	-	1	

TE = Tetracyclin 10 mcg, S = Streptomycin 10 mcg, G = Sulfafurazol 500 mcg, PN = Ampicillin 10 mcg, CR = Cephaloridin 25 mcg, K = Kanamycin 30 mcg, CT = Colistinsulfat 10 mcg
PY = Carbenicillin 100 mcg, FR = Furazolidon 50 mcg, C = Chloramphenicol 30 mcg, SXT = Sulfamethoxazol/Trimethoprim 25 mcg

4. Übertragbarkeit der Antibiotikaresistenz unter Berücksichtigung der Specieszugehörigkeit und Auf - teilung der R-Plasmid-tragenden Stämme nach Herkunft

Tabelle 8 zeigt eine Gegenüberstellung von 3 R-Plasmid-Übertragungs-Untersuchungsreihen. In der I. und II. Untersuchungsreihe dienten als Akzeptoren E.coli K 12 Lactose-positiv bzw. Lactose-negativ, in der III. Untersuchungsreihe war der Akzeptor ein pathogener Salmonella typhimurium-Stamm. Die Reihe I und II unterscheiden sich durch die verschiedenen zur Prüfung gelangten Antibiotika bzw. Chemotherapeutika; dieses erklärt auch die Variation der Anzahl der insgesamt untersuchten Stämme bei den Untersuchungsreihen. Die Unterteilung der Stämme in die einzelnen Species erlaubt einen Vergleich der Donatoren-Eigenschaften der Species untereinander. Die unterschiedlichen Akzeptoren geben Gelegenheit zum Vergleich der Empfängereigenschaften zwischen E.coli und Salmonella typhimurium.

Tabelle 9 gibt Auskunft über die Quellen der resistenten Stämme und den prozentualen Anteil von R-Plasmid-tragenden Stämmen in verschiedenen Untersuchungen.

Tabelle 8

Nachweis der infektiösen Resistenz(R^+) bei 3 R-Plasmid-Übertragungs-Versuchen

	I			II			III		
Species	R	R^+	%	R	R^+	%	R	R^+	%
E.coli	64	27	42,1	53	15	28,3	58	23	39,6
Klebsiella	30	9	30,0	28	7	25,0	23	7	30,4
Enterobacter	11	4	36,3	13	2	15,3	8	1	12,5
Hafnia	10	4	40,4	8	1	12,5	5	2	40,0
Proteus	8	1	12,5	12	-	-	-	-	-
Citrobacter	10	-	-	4	-	-	8	-	-
Salmonella	4	4	100	6	4	66,6	-	-	-
Serratia	4	-	-	4	-	-	-	-	-
Summe	141	49	34,5	128	29	22,6	102	33	32,3

I,II,III = 1.,2. bzw. 3. Untersuchungsreihe

Tabelle 9

Aufteilung der R-Plasmid tragenden Stämme (R^+)

bei 3 Versuchen

Herkunft	I			II			III		
	R	R^+	%	R	R^+	%	R	R^+	%
Schlacht-tierkörper (Schwein)	78	29	37,1	72	14	19,4	64	22	34,3
Teilstücke (Schwein)	19	7	36,8	16	5	31,2	16	6	37,5
Hackfleisch (Schwein)	31	8	25,8	26	5	19,2	17	4	23,5
Stamm-Sammlung	8	4	44,4	11	5	41,6	3	1	33,3
Gefrier-Geflügel	5	1	20,0	3	-	-	2	-	-
Summe	141	49	34,5	128	29	22,6	102	33	32,3

I,II,III = 1.,2. bzw. 3. Untersuchungsreihe

5.Häufigkeit der R-Plasmid-Übertragung bei Berücksichtigung des Resistenzmusters

Die Tabelle 10 gibt einen Überblick für die Übertragbarkeit von R-Plasmiden bei verschiedenen Species, aufgeschlüsselt nach R-Determinanten-Kombinationen. In der I. (II.) Untersuchungsreihe konnten 23 % (19 %) der einfachresistenten Enterobacteriaceae ihre R-Plasmide auf E.coli-Akzeptoren übertragen,und in der III. Untersuchungsreihe konnten 21 % der Stämme auf den Akzeptor-Stamm Salmonella typhimurium übertragen.Bei den mehrfachresistenten Stämmen waren in der I. (II.) Untersuchungsreihe 53% (34%) der Stämme in der Lage,ihre R-Plasmide zu übertragen,und bei der Untersuchung (III.) mit Salmonella typhimurium betrug der Prozentsatz 46 %.

Ein Vergleich zwischen Vorkommen von Plasmiden bei Stämmen mit Mono- und Multiresistenzen mit unterschiedlichen Resistenz-Kombinationen wird in Tabelle 11 aufgezeigt.

Tabelle 10 a

Häufigkeit der R-Plasmid-Übertragungen (Akzeptoren E.coli K 12) bei Berücksichtigung des Resistenzmusters

	E.coli		Klebsiella		Enterobacter		Hafnia		Proteus		Citrobacter		Salmonella		Serratia		Enterobacteriaceae		
Determinanten	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	R^+ in %
T	19	3	17	3	1	2	6	2	7	-	1	-	1	1	/		53	11	9,5
S	10	5	1	1	5	2	1	1	/		4	-	1	1	3	-	25	10	40,0
K	1	-	1	-	/		/		3	-	/		/		/		6	-	-
C T	1	-	/		/		/		/		/		/		/		1	-	-
T S	25	13	8	3	3	1	3	1	1	1	1	-	1	1	1	-	43	20	48,8
S K	1	1	/		/		/		/		1	-	/		/		2	1	
C S	1	1	/		/		/		/		/		/		/		1	1	
C T S	6	4	2	2	/		/		/		/		/		/		8	6	75,0
T S K	/		1	-	/		/		/		/		/		/		1	-	
C S K	/		/		/		/		/		/		1	1	/		1	-	-
Summe	64	27	30	9	11	4	10	4	8	1	10	-	4	4	4	-	141	49	34,5

I. = die überprüften Chemotherapeutika waren: Oxytetracyclin (T) 30 mcg, Chloramphenicol (C) 30 mcg, Streptomycin (S) 10 mcg, Kanamycin (K) 10 mcg; n = Anteil der resistenten Stämme, R^+ = Anteil der R-Plasmid-tragenden Stämme; / = Resistenzmuster kam nicht vor; - = R-Plasmid-Übertragung konnte nicht festgestellt werden; R^+ in % = prozentueller Anteil der R-Plasmid-Übertragung aller resistenten Stämme (n) eines Resistenzmusters; leeres Feld = keine R-Plasmid-Übertragung möglich, da Resistenzmuster nicht vorkam

Tabelle 10 b

Häufigkeit der R-Plasmid-Übertragungen (Akzeptoren E.coli K 12) bei Berücksichtigung des Resistenzmusters

	E.coli		Klebsiella		Enterobacter		Hafnia		Proteus		Citrobacter		Salmonella		Serratia		Enterobacteriaceae		
Determinanten	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	R^+ in %
TE	36	7	23	5	5	1	8	1	3	-	2	-	2	2	3	-	82	16	19,5
PN	1	1	1	-	8	1	/		/		/		1	1	1	-	14	3	21,4
FR	/		/		/		/		2	-	/		/		/		2	-	-
K	/		/		/		/		/		4	-	/		/		4	-	-
TE PN	4	4	1	1	/		/		2	-	/		/		/		7	5	71,4
TE FR	/		1	-	/		/		1	-	/		/		/		2	-	-
TE C	7	1	1	-	/		/		/		/		/		/		8	1	12,5
PN FR	1	1	/		/		2	-	/		/		/		/		3	1	
PN C	1	-	/		/		/		/		/		/		/		1	-	-
TE PN FR	/		/		/		/		1	-	/		/		/		1	-	-
TE FR C	/		1	1	/		/		/		/		/		/		1	1	
TE FR FC	3	1	/		/		/		/		/		/		/		3	1	
Summe	53	15	28	7	13	2	8	1	12	-	6	-	4	4	4	-	128	29	22,6

II. = die überprüften Chemotherapeutika waren:Tetracyclin (TE) 30 mcg,Ampicillin (PN) 10 mcg, Chloramphenicol (C) 30 mcg,Furazolidon (FR) 50 mcg,Kanamycin (K) 30 mcg,Nitrofurazon (FC) 100 mcg,Trimethoprim (W) 5 mcg,Gentamycin (CN) 10 mcg);andere Symbole siehe Tabelle

Tabelle 10 c

Häufigkeit der R-Plasmid-Übertragungen (Akzeptoren S.typhi-murium) bei Berücksichtigung des Resistenzmusters

	E.coli		Klebsiella		Enterobacter		Hafnia		Citrobacter		Enterobacteriaceae		
Determinanten	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	n	R^+	R^+ in %
TE	15	3	12	2	1	-	3	-	/		31	5	16,1
S	10	3	1	1	3	1	/		3	-	17	5	29,4
PN	/		1	-	2	-	/		/		3	1	
C	/		1	1	/		/		/		1	1	
K	/		/		/		/		4	-	4	-	
TE S	19	9	5	1	2	-	2	-	1	-	29	12	41,3
TE PN	2	1	/		/		/		/		2	1	
TE C	1	-	/		/		/		/		1	-	
PN FR	1	-	/		/		/		/		1	-	
S PN	1	1	/		/		/		/		1	1	
TE S PN	1	1	1	1	/		/		/		2	2	
TE S C	4	3	1	1	/		/		/		5	4	80,0
TE C FR	/		1	-	/		/		/		1	-	
S PN C	1	1	1	-	/		/		/		2	1	
TE S FR FC	2	-	/		/		/		/		2	-	
Summe	58	23	23	7	8	1	5	2	8	-	102	33	32,3

III. = die überprüften Chemotherapeutika waren: TE,S,PN,C,K,FR,FC ;andere Symbole Tabelle 10a,b

Tabelle 11

Übertragbarkeit der Resistenz bei Vorliegen von Mono- und Multi-Resistenz

Versuch	Akzeptor	Mono-Resistenz			Multi-Resistenz		
		R	R^+	%	R	R^+	%
I	E.coli	84	19	22,6	57	30	52,6
II	E.coli	102	19	18,6	26	9	34,6
III	Salmonella	56	12	21,4	46	21	45,6

R = Anzahl der resistenten Stämme; R^+ = Anzahl der R-Plasmid-tragenden Stämme

Tabelle 12

Vorkommen der Colicinogenie (C) unter Berücksichtigung der Speciszugehörigkeit

Species	n	C	%
E.coli	78	21	26,9
Klebsiella	45	5	11,1
Enterobacter	50	1	2,0
Hafnia	24	2	8,3
Proteus	16	3	18,7
Citrobacter	15	2	13,3
Salmonella	14	-	-
Serratia	7	4	57,1
Summe	249	38	15,2

6. Vorkommen der Colicinogenie unter Berücksichtigung der Specieszugehörigkeit und Nachweis der Col-Plasmid-Übertragung bei colicinbildenden Stämmen, aufgeteilt nach Species

In Tabelle 12 sind Daten über die Bacteriocinbildung, getrennt nach einzelnen Species, aufgeführt. Abgesehen von Salmonella-Stämmen konnte bei allen übrigen Vertretern der Enterobacteriaceae- wenn auch in verschiedenem Maße - eine Produktion dieser Stoffe festgestellt werden. Mit 57 % standen die Serratia-Stämme an der Spitze, gefolgt von E.coli mit 27 % , Proteus mit 19 % , Citrobacter mit 13 % und Klebsiella mit 11 %. Dagegen war die Bacteriocin-Häufigkeit bei Hafnia mit 8 % und Enterobacter mit 2 % wesentlich geringer. Das Vorkommen von übertragbaren Col-Plasmiden ist in Tabelle 13 getrennt für die einzelnen Species zusammengestellt. Danach konnten bei 31,5 % der Stämme von E.coli, Klebsiella und Proteus die Bacteriocin-Eigenschaften übertragen werden. Da jedoch die Zahl der überprüften Stämme relativ gering war, muß dieser Wert mit der nötigen Vorsicht beurteilt werden.

Tabelle 13

Nachweis der Col-Plasmid-Übertragung(Col) bei Colicin-bildenden Stämmen, aufgeteilt nach Species

Species	C	Col	in %
E.coli	21	9	42,8
Klebsiella	5	2	40,0
Enterobacter	1	-	-
Hafnia	2	-	-
Proteus	3	1	33,3
Serratia	4	-	-
Citrobacter	2	-	-
Summe	38	12	31,5

C = Anzahl der Colicin-bildenden Stämme
Col = Anzahl der Stämme mit Col-Plasmid-Übertragung

7. Vermehrungsfähigkeit der Donator-Stämme in Bouillon im unterem Temperaturgrenzbereich (8,6,4 und 2°C)

Die Ergebnisse der Überprüfung der Vermehrungsfähigkeit von 36 Donatoren-Stämmen verschiedener Species in den Temperaturbereichen von +2°C bis +8°C sind in Tabelle 14 dargestellt. Innerhalb von 4 Tagen konnte bei 8°C eine schwache bis sehr gute Vermehrungsfähigkeit festgestellt werden. Dabei wurde eine Keimzunahme über 2 Zehnerpotenzen als sehr gutes Wachstum bezeichnet, bei einer Zunahme von 1-2 Zehnerpotenzen als gutes und bis zu 1 Zehnerpotenz als schwaches Wachstum bezeichnet. Bei 14 der insgesamt 23 E.coli-Stämme konnte bei 8°C ein schwaches Wachstum ermittelt werden, bei 3 E.coli-Stämmen ein gutes Wachstum, bei 5 E.coli-Stämmen konnte bei 8°C kein Wachstum festgestellt werden. Bei 5 der insgesamt 8 Klebsiella-Stämme konnte gutes Wachstum, bei 2 Stämmen sehr gutes und bei 2 Stämmen kein Wachstum ermittelt werden. Enterobacter, Hafnia und Proteus (jeweils mit einem Vertreter) zeigten sehr gutes Wachstum.

Die Ergebnisse der 6°C -Versuche (die letzte Extinktion wurde am 6.Tag abgelesen) waren wie folgt: 3 der insgesamt 23 E.coli-Stämme zeigten schwaches Wachstum, alle anderen 20 Stämme konnten sich nicht mehr vermehren. 2 der insgesamt 8 Klebsiella-Stämme zeigten sehr gutes Wachstum, 1 Stamm gutes und 1 Stamm schwaches Wachstum. Enterobacter und Proteus zeigten gutes

Wachstum.Hafnia und die beiden Salmonella-Stämme sehr gutes Wachstum.

Beim 4°C-Versuch (letzte Ablesung am 8.Tag) waren folgende Ergebnisse zu ermitteln: 2 Klebsiella-Stämme wuchsen gut und 1 Stamm sehr gut.Die Enterobacter, Hafnia-und Salmonella-Stämme wuchsen sehr gut,alle anderen Stämme konnten sich nicht vermehren.

Bei 2°C konnte noch 1 Klebsiella-Stamm gut wachsen, Enterobacter und Hafnia schwach wachsen,alle anderen Stämme konnten sich nicht vermehren.

Tabelle 14

Prüfung der Vermehrungsfähigkeit der Donator-Stämme in Bouillon im unteren Temperaturgrenzbereich

Donator-Species	Stamm-Nr.	Prüftemperatur 8°C	6°C	4°C	2°C
E.coli	1				
E.coli	7	(+)			
E.coli	11	+	(+)		
E.coli	17	(+)			
E.coli	26				
E.coli	31	(+)			
E.coli	33	(+)			
E.coli	4o				
E.coli	43	(+)			
E.coli	35	(+)			
E.coli	37	(+)			
E.coli	49				
E.coli	55	+			
E.coli	63	+			
E.coli	64	(+)			
E.coli	45	+	(+)		
E.coli	57	(+)			
E.coli	59	(+)	(+)		
E.coli	62	(+)			
E.coli	66	(+)			
E.coli	67	(+)			
E.coli	71	(+)			
E.coli	8o				
Klebsiella	1o4	+		+	
Klebsiella	116	+			
Klebsiella	12o	+	++		
Klebsiella	111				
Klebsiella	126	+			
Klebsiella	132	++	(+)	+	
Klebsiella	133	++	+		
Klebsiella	141	+	++	++	+
Enterobacter	225	++	+	++	(+)
Hafnia	318	++	++	++	(+)
Proteus	4o9	++	+		
Salmonella	6o9	+	++	++	
Salmonella	61o	+	++	++	
Summe		3o	12	8	3
Summe in %		83%	33%	22%	

(+) = Keimzunahme bis zu 1 Zehnerpotenz
\+ = Keimzunahme um 1 -2 Zehnerpotenzen
++ = Keimzunahme über 2 Zehnerpotenzen
die letzte photometrische Ablesung erfolgte bei 8°C am 4.Tag,bei 6°C am 6.Tag,bei 4°C am 8.Tag,bei 2°C am 1o. Tag; leeres Feld = kein Wachstum

8. Übertragungsfrequenzen für R-Plasmide bei verschiedenen Species bei unterschiedlichen Temperaturen (37 und 4°C) in Bouillon

Die Frequenzen der R-Plasmid-Übertragung der in den vorangegangenen Untersuchungen ermittelten Donatoren für die Temperaturbereiche 37° und 4°C werden in den Tabellen 15 und 16 dargestellt. Von den insgesamt 36 Donator-Stämmen übertrugen innerhalb 1 Stunde bei 37°C 21 Stämme (= 58%) ihr R-Plasmid, innerhalb 1 Stunde bei 4°C dagegen nur 13 Stämme (=36 %). Bei der Temperatur von 37°C konnte eine R-Plasmid-Übertragungsfrequenz von $1o^{-4}$ bei 28 % der Donatoren festgestellt werden, eine Frequenz von $1o^{-5}$ bei 14 % der Stämme, von $1o^{-3}$ bei 8%, von $1o^{-6}$ bei 8%. Keine Übertragung des R-Plasmides innerhalb dieser kurzen Zeit konnte bei 42% der Donatoren festgestellt werden. Die Ergebnisse waren bei 4°C wie folgt: bei jeweils 4 Stämmen (= 11 %) betrugen die Übertragungsfrequenzen $1o^{-4}$ bzw. $1o^{-6}$, bei 2 Stämmen $1o^{-3}$ und bei 3 Stämmen $1o^{-5}$. Keine Übertragungen konnten bei 23 Stämmen (= 64 %) ermittelt werden.

Tabelle 15

Übertragungs-Frequenzen* der R-Plasmide innerhalb 1 Stunde in Bouillon von 36 Donatoren(n) bei verschiedenen Temperaturen

	37°C		4°C	
Übertragungsfrequenz	n	%	n	%
10^{-3}	3	8,3	2	5,5
10^{-4}	10	27,8	4	11,1
10^{-5}	5	13,9	3	8,3
10^{-6}	3	8,3	4	11,1
$< 10^{-6}$	15	41,7	23	63,8

* Frequenz = Quotient der R-Plasmid-Übertragung pro resistente Donator-Zellen auf sensible Akzeptor-Zellen ; $< 10^{-6}$ = Übertragung methodich nicht feststellbar, wahrscheinlich liegt die Frequenz unter 10^{-6}

Tabelle 16

R-Plasmid-Übertragungsfrequenzen von 36 Donatorstämmen bei den Prüftemperaturen von 37°C und 4°C innerhalb einer Stunde in Bouillon

Donator-Species	Nr.	Frequenzen 37°C	4°C	
E.coli	1	10^{-6}	$<10^{-6}$	***
E.coli	7	10^{-5}	$<10^{-6}$	***
E.coli	11	10^{-3}	10^{-4}	***
E.coli	17	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	26	10^{-6}	10^{-6}	*
E.coli	31	10^{-3}	10^{-3}	*
E.coli	33	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	40	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	43	10^{-4}	$<10^{-6}$	***
E.coli	35	10^{-4}	$<10^{-6}$	***
E.coli	37	10^{-5}	$<10^{-6}$	***
E.coli	49	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	55	10^{-4}	10^{-5}	***
E.coli	63	10^{-5}	$<10^{-6}$	***
E.coli	64	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	45	10^{-5}	10^{-5}	*
E.coli	57	10^{-4}	$<10^{-6}$	***
E.coli	59	10^{-3}	$<10^{-6}$	***
E.coli	62	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	66	10^{-6}	$<10^{-6}$	***
E.coli	67	10^{-4}	10^{-6}	***
E.coli	71	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
E.coli	80	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	104	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	116	$<10^{-6}$	10^{-3}	*
Klebsiella	120	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	111	10^{-4}	10^{-6}	***
Klebsiella	126	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	132	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	133	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Klebsiella	141	10^{-4}	10^{-4}	*
Enterobacter	225	$<10^{-6}$	$<10^{-6}$	**
Hafnia	318	10^{-5}	10^{-5}	*
Proteus	409	10^{-4}	10^{-4}	*
Salmonella	609	10^{-4}	10^{-6}	***
Salmonella	610	10^{-4}	10^{-4}	*

* = kein Unterschied der Frequenzen
** = innerhalb 1 Stunde konnten die Plasmide nicht übertragen werden
*** = geringere R-Plasmid-Frequenz bei 4°C
$<10^{-6}$ = 1 : > 1 000 000

9.R-Plasmid-Übertragungen bei verschiedenen Temperaturen (22,15,10 und 4°C)in Bouillon

Bei 22°C konnten alle Stämme ihr R-Plasmid übertragen.

Bei 15°C konnten im ersten Versuch 17 (= 47%),im zweiten 6 (= 17 %) und im dritten 14 (= 39 %) Übertragungen ermittelt werden.Eine Zusammenfassung aller drei Versuche in Tabelle 17 ergibt,daß in Bouillon bei 15°C 19 (= 53 %)von den insgesamt 36 Donatoren ihre R-Plasmide auf E.coli K 12-Akzeptoren übertragen hatten.

Bei 10°C konnten im ersten Versuch 15 (= 42 %) der Stämme,im zweiten Versuch 9 (= 25 %),im dritten Versuch 5 (= 14 %) und im vierten Versuch 8 (= 22%) der Stämme ihre R-Plasmide übertragen.Bei Zusammenfassung aller vier Versuche (siehe Tabelle 17) hatten bei 10°C von den insgesamt 36 Donatoren-Stämmen 20 (= 56 %) ihre R-Plasmide übertragen.

Im 4°C-Bereich wurde 1 Versuch durchgeführt.Es konnten 14 (= 39 %) Stämme mit R-Plasmid-Übertragungen ermittelt werden.Unter Hinzuziehung der Ergebnisse der 4°C-Frequenz-Versuche konnte eine R-Plasmid-Übertragungsrate bei 4°C von 17 (= 47 %) Stämmen erzielt werden.

Zusammenfassend ist festzustellen,daß bei den 36 geprüften Donator-Stämmen bei der Übertragung der R-Plasmide in Bouillon kein Unterschied zwischen 37°C und 22°C bestand.Bei 15°C konnte eine Übertragung nur bei der Hälfte der Stämme festgestellt werden.Bei 10 und 4°C war eine abnehmende Tendenz zu beobachten.

Tabelle 17

R-Plasmid-Übertragungen zwischen Enterobacteriaceae in Bouillon bei verschiedenen Temperaturen

Donator-Species	Herkunft	Stamm-Nr.	Prüftemperatur 37°C	22°C	15°C	10°C	4°C
E.coli	Schk.sw.G.vR.	1	+	+	+	+	
E.coli	Schk.sw.S.vR.	7	+	+			
E.coli	Schk.sw.G.nR.	11	+	+	+	+	+
E.coli	Schk.sw.G.nR.	17	+	+		+	
E.coli	Schk.sw.G.nR.	26	+	+		+	+
E.coli	Schk.sw.G.nR.	31	+	+	+	+	+
E.coli	Schk.sw.G.nR.	33	+	+		+	
E.coli	Schk.sw.G.nR.	40	+	+		+	
E.coli	Schk.sw.G.nR.	43	+	+	+		
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	35	+	+			
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	37	+	+			
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	49	+	+	+		+
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	55	+	+			
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	63	+	+			
E.coli	Schk.dk.G.(1-3)	64	+	+			
E.coli	Schk.dk.G.(4-7)	45	+	+	+	+	+
E.coli	Schk.dk.S.(1-3)	57	+	+	+	+	
E.coli	Schk.dk.S.(1-3)	59	+	+	+		
E.coli	Tst.Zerlegeband	62	+	+			
E.coli	Tst.Zerlegeband	66	+	+			
E.coli	Tst.Zerlegeband	67	+	+	+	+	+
E.coli	Hackfleisch	71	+	+			
E.coli	Stammsammlung	80	+	+			
Klebsiella	Schk.sw.G.nR.	104	+	+			
Klebsiella	Schk.dk.G.(1-3)	116	+	+			+
Klebsiella	Schk.dk.G.(1-3)	120	+	+			
Klebsiella	Schk.dk.S.(1-3)	111	+	+	+		+
Klebsiella	Tst.Verteilung	126	+	+			
Klebsiella	Hackfleisch	132	+	+	+	+	
Klebsiella	Hackfleisch	133	+	+	+	+	
Klebsiella	Hackfleisch	141	+	+	+		+
Enterobac.	Tst.Verteilung	225	+	+	+	+	+
Hafnia	Hackfleisch	318	+	+	+	+	+
Proteus	Schk.dk.G.(1-3)	409	+	+	+		+
Salmonella	Stammsammlung	609	+	+	+	+	+
Salmonella	Stammsammlung	610	+	+	+	+	+
Summe			36	36	18	16	14
(Summe in %)			(100)	(100)	(50)	(45)	(39)

Abkürzungen: Schk. = Schlachttierkörper (Schwein), Tst. =Teilstücke (Schwein), s.w. = schlachtwarm, dk. = durchgekühlt, G. = M.gracilis, S. = Stichsteile, vR. = vor der Reinigung, nR. = nach der Reinigung
Bezeichnungen nach Ilgen (1976)

10. Charakterisierung des Ausgangsmaterials Fleisch für die R-Plasmid-Übertragungsversuche

Die pH-Werte, der Ausgangskeimgehalt und die Ergebnisse des Hemmstoff-Testes sowie der Wässrigkeitsüberprüfung des verwendeten Versuchsfleisches ergeben sich aus der Tabelle 18. Die Keimflora setzte sich vorwiegend aus Staphylokokken und Streptokokken zusammen. In einigen Fällen konnten auch Enterobacteriaceae ermittelt werden, dabei dominierten folgende Species: E. coli, Citrobacter, Enterobacter. Colicin-bildende Stämme konnten nicht festgestellt werden.

Tabelle 18

Charakterisierung des Ausgangsmateriales Fleisch für die R-Plasmid-Übertragungsversuche

R-Plasmid-Übertragungsversuche		Verwendung	Gesamtkeimzahl/g	pH-Wert	H.T.	Wäßrigk.
	in zerkleinertem Fleisch	1. Versuch 22°C	1,0 x 10^2	5,9	-	normal
		2. " 10°C	3,6 x 10^2	5,7	-	normal
		3. " 4 °C	5,6 x 10^2	5,8	-	normal
		4. " 4 °C	4,2 x 10^2	6,1	-	normal
		5. " 4 °C	5,4 x 10^2	6,2	-	normal
	auf der Fleischoberfläche	6. Versuch 37°C 7. " 22°C	5,8 x 10^2	6,2	-	normal
		8. " 15°C 9. " 10°C 10. " 4 °C	4,6 x 10^2	6,3	-	normal
		11. " 37°C 12. " 22°C	2,9 x 10^2	6,0	-	normal
		13. " 15°C 14. " 10°C 15. " 4 °C	6,0 x 10^2	6,1	-	erhöht*)
		16. " 10°C 17. " 10°C	2,6 x 10^2	6,2	-	erhöht**)
		18. " 10°C 19. " 4 °C	4,2 x 10^2	6,0	-	normal
		20. " 10°C 21. " 4 °C	3,6 x 10^2	6,3	-	normal

H.T. = Hemmstofftest

Wäßrigkeit = Gehalt an auspreßbarem Wasser

normal :Hofdurchmesser 7 mm

*) = 9 mm, **) = 9,5 mm

Versuch 6 -15 aufgetragene Keimmenge gering

" 16-17 " " mittel

" 18-21 " " hoch

11. R-Plasmid-Übertragungen im zerkleinerten Schweinefleisch bei verschiedenen Temperaturen (22, 10, 4°C)

Bei 22°C waren 21 (= 58 %) der 36 Donator-Stämme fähig, ihre R-Plasmide im zerkleinerten Fleisch zu übertragen.

Bei exakter Einhaltung der Temperaturen bei 10°C übertrugen 18 (= 50 %) der Stämme, bei 4°C 7 (= 19 %) der Stämme ihre R-Plasmide im Fleisch (Tabelle 19).

Bei Inokulierung einer Bouillon mit 22°C in Fleisch derselben Temperatur und anschließender Lagerung bei 4°C konnten erheblich mehr Übertragungen der R-Plasmide mit 22 (= 61 %) ermittelt werden.

Bei einem weiteren Versuch bei 4°C mit 1/10 der eingemischten Donatoren- und Akzeptorenmengen konnten keine R-Plasmid-Übertragungen festgestellt werden.

Tabelle 19

R-Plasmid-Übertragungen zwischen Enterobacteriaceae im zerkleinerten Fleisch bei verschiedenen Temperaturen

Species	Nr.	22°C	10°C	4°C *	4°C **	Summe
E.coli	1	+		+		+
E.coli	7			+		+
E.coli	11	+	+		+	+
E.coli	17	+		+		+
E.coli	26			+		+
E.coli	31	+	+	+	+	+
E.coli	33		+	+		+
E.coli	40	+	+	+		+
E.coli	43	+	+	+		+
E.coli	35			+		+
E.coli	37					
E.coli	49	+			+	+
E.coli	55			+		+
E.coli	63					
E.coli	64	+		+		+
E.coli	45	+	+			+
E.coli	57			+		+
E.coli	59	+		+		+
E.coli	62			+		+
E.coli	66	+	+			+
E.coli	67	+	+			+
E.coli	71					
E.coli	80	+				+
Klebsiella	104					
Klebsiella	116		+	+	+	+
Klebsiella	120		+			+
Klebsiella	111					
Klebsiella	126	+	+	+		+
Klebsiella	132	+	+	+		+
Klebsiella	133	+	+	+		+
Klebsiella	141	+	+	+		+
Enterobacter	225	+	+			+
Hafnia	318	+	+	+		+
Proteus	409	+	+	+	+	+
Salmonella	609	+	+	+	+	+
Salmonella	610	+	+	+	+	+
Summe		21	18	22	7	30
(Summe in %)		(58)	(50)	(61)	(19)	(83)

* Methodik: Bouillon und Fleisch wurden nicht vor Versuchsbeginn auf die entsprechende Temperatur von 4°C heruntergekühlt; dagegen bei ** exakte Temperatureinhaltung von 4°C von Beginn der Versuchsdurchführung an. Die in das Fleisch inokulierte Donator- und Akzeptor-Keimmenge entsprach der in den Bouillon-Versuchen verwendeten Keimmenge.

12. R-Plasmid-Übertragungen auf der Fleischoberfläche bei verschiedenen Temperaturen (37, 22, 15, 10 und 4°C)

Eine geringe Keimmenge (1 Kolonie des Donators und 1 Kolonie des Akzeptors) wurde mittels Tupfer auf die Oberfläche der Fleischproben, die auf fünf verschiedene Temperaturen eingestellt waren, gleichmäßig aufgetragen. Die zusammengefaßten Ergebnisse der Doppelversuche (siehe Tabelle 20) waren wie folgt: bei 37°C konnten 33 (= 92 %), bei 22°C 24 (= 67 %) und bei 15°C 12 (= 33 %) der 36 untersuchten Donator-Stämme ihre R-Plasmide übertragen. Bei 10 und 4°C konnten keine R-Plasmid-Übertragungen festgestellt werden.

In zwei weiteren 10°C Temperatur-Versuchen wurden auf die Fleischoberfläche mittlere (24 Stunden bebrütete Nährbouillon, die mit 1 Kolonie des Donators bzw. 1 Kolonie des Akzeptors beimpft worden war) Keimmengen gleichmäßig mit Hilfe von Wattetupfern aufgetragen. Es konnten jedoch keine R-Plasmid-Übertragungen festgestellt werden.

Die Verhältnisse bei den Temperaturen 10 und 4°C wurden nochmals geprüft mit einer relativ hohen Keimmenge (Zentrifugat des Donators und des Akzeptors). Es konnten daraufhin bei 10°C 25 (= 70 %) und bei 4°C 30 (= 83 %) der Stämme ihre R-Plasmide übertragen.

Tabelle 20

R-Plasmid-Übertragungen zwischen Enterobacteriaceae auf der Fleischoberfläche in verschiedenen Temperaturbereichen bei Auftragung unterschiedlicher Keimmengen

Donator-Species	Nr.	Keimmenge gering 37°C	22°C	15°C	10°C	4°C	mittel 10°C	hoch 10°C	4°C
E.coli	1	+	+					+	
E.coli	7	+						+	
E.coli	11	+	+	+					
E.coli	17	+						+	+
E.coli	26	+						+	+
E.coli	31	+	+						+
E.coli	33							+	+
E.coli	40	+	+					+	+
E.coli	43	+	+					+	+
E.coli	35	+						+	
E.coli	37	+	+					+	+
E.coli	49	+						+	+
E.coli	55	+							+
E.coli	63	+	+						
E.coli	64	+	+					+	+
E.coli	45	+	+	+				+	+
E.coli	57	+	+					+	+
E.coli	59	+	+						+
E.coli	62		+					+	
E.coli	66	+	+					+	+
E.coli	67	+	+	+				+	+
E.coli	71	+						+	+
E.coli	80								+
Klebsiella	104	+							+
Klebsiella	116	+						+	+
Klebsiella	120	+	+						
Klebsiella	111	+	+	+				+	+
Klebsiella	126	+							+
Klebsiella	132	+	+	+				+	+
Klebsiella	133	+	+	+				+	+
Klebsiella	141	+	+	+				+	+
Enterobacter	225	+	+	+					+
Hafnia	318	+	+	+				+	+
Proteus	409	+	+	+				+	+
Salmonella	609	+	+	+					+
Salmonella	610	+	+	+				+	+
Summe		33	24	12	0	0	0	25	30
Summe in %		92	67	33				78	83

geringe Keimmenge = 1 Kolonie des Donator- und Akzeptor-Stammes in 0,8 %iger NaCl-Lsg. suspendiert

mittlere Keimmenge = 24-stündige Donator- und Akzeptor-Bouillon

hohe Keimmenge = Zentrifugat einer 24-stündigen Donator- und Akzeptor-Bouillon

D. Diskussion der Ergebnisse

Die Zusammensetzung des geprüften Stammkolletives war wie folgt: Die häufigste Species der insgesamt 249 untersuchten Stämme war E.coli mit 78 Vertretern (31 %). Klebsiella und Enterobacter folgten mit 18 bzw. 20 %. Dagegen waren nur einzelne Vertreter der übrigen Enterobacteriaceae vertreten. ÜLGEN (1976) erhielt bei Untersuchungen von Schweinefleisch sofort nach dem Schlachtvorgang als dominierende Species E.coli, Enterobacter und Hafnia. Klebsiella, Proteus und Serratia kamen weniger häufig vor. Auch KNIEWALLNER et al. (1975) identifizierten als resistente Enterobacteriaceae kurz nach der Schlachtung vornehmlich E.coli, Klebsiella und Enterobacter. Hafnia, Serratia, Citrobacter, Arizona und Proteus dagegen waren seltener. Die Auswahl der Prüfstämme für die vorgelegten Untersuchungen erscheint also aus ökologischen Gründen im Rahmen der Fragestellung vollauf gerechtfertigt. Galt es doch, die infektiöse Verbreitung von Resistenz-Plasmiden von Stämmen tierischen Ursprungs auf solche in Lebensmitteln zu verfolgen.

Die für die Resistenztestung ausgewählten Chemotherapeutika waren nach folgenden Aspekten ausgesucht worden: Es wurden solche Substanzen geprüft, (I) von denen bekannt war oder - wie im Falle des Nitrofurazons bzw. Furazolidons - vermutet wurde, daß die bei Enterobacteriaceae auftretenden Resistenzen gegenüber diesen Stoffen durch R-Plasmide determiniert sein können, (II) die beim Tier in Form von Futtermittelzusätzen sowie bei pro-

phylaktischen und therapeutischen Maßnahmen verabreicht werden,(III) die beim Menschen bevorzugt Anwendung finden,wie z.B.Gentamycin und neu entwickelte halbsynthetische Penicilline,(IV) die neuere Wirkstoffe,wie z.B. Trimethoprim,darstellen.

Die mehrmalige Untersuchung mit demselben Chemotherapeutikum in unterschiedlichen Konzentrationen ergab sich aus vorgefertigten Teststernbeschickungen.Aus diesem Grund erfolgte eine Zusammenfassung der Ergebnisse aus Untersuchungen mit 3 verschiedenen Teststernen unter Berücksichtigung der aussagekräftigen Daten.

Das Auftreten bestimmter R-Determinanten bzw.Resistenzmuster der Enterobacteriaceae bei Untersuchungen verschiedner Autoren ist schwer zu interpretieren.Je nach Herkunft der Stämme ist als Folge des direkten Antibiotika-Kontaktes und des dadurch entstehenden Selektionsdruckes mit unterschiedlichen Resistenzen zu rechnen.Diese können sowohl in ihrer Häufigkeit des Vorkommens als auch im Vorhandensein einzelner Resistenz-Determinanten variieren.Je nach verabreichtem Antibiotikum werden vornehmlich Plasmide mit solchen Resistenz-Determinanten selektiert,die gegen diese Chemotherapeutika gerichtet sind,aber auch solche,die in engen verwandtschaftlichen Beziehungen (Kreuzresistenz) zu dieser Substanz stehen (MITSUHASHI et al.,1967;BULLING et al., 1971 und 1972;FLEMING,1973). Weiterhin ist zu beachten, daß in einem Plasmid bis zu 8 Resistenz-vermittelnde Eigenschaften determiniert sein können(KONTOMICHALOU,1967).

Daher werden auch Resistenzen gegenüber nicht zur Anwendung gelangten Chemotherapeutika mitselektiert.Da in der Literatur über Herkunft und den Antibiotika-Selektionsdruck bei den isolierten Enterobacteriaceae oft nur spärliche Angaben gemacht wurden und recht unterschiedliche Untersuchungsmethoden angewendet wurden,ist der Versuch einer vergleichenden Bewertung als äußerst schwierig anzusehen. Es wird zu Vergleichszwecken nur auf die Arbeiten von ÜLGEN (1976);KNIEWALLNER et al.(1975);WALTON (1966);ADEN et al.(1969) eingegangen.Diese konnten ähnliche Ergebnisse ermitteln.

Bei den hier vorgelegten Ergebnissen waren vorzugsweise Resistenz-Determinanten gegenüber 3 Chemotherapeutika festzustellen,bei 88 % der Stämme gegenüber Tetracyclin, bei 49 % der Stämme gegenüber Streptomycin und bei 48 % gegenüber Sulfonamiden.Auch bei den ökologischen Untersuchungen von ÜLGEN (1976) über Enterobacteriaceae aus Schweinefleisch,aus dessen Stammsatz der überwiegende Teil der hier geprüften Stämme resultierte,waren die häufigsten Resistenz-Determinanten die gegen Oxytetracyclin (54 % der Stämme),Streptomycin (49 % der Stämme),Sulfonamide (60 % der Stämme) und Ampicillin (50 % der Stämme). Die hohe Empfindlichkeit der untersuchten Stämme gegenüber Trimethoprim ist für dieses relativ neue Chemotherapeutikum nicht erstaunlich.So bezeichneten FLEMING et al.(1972) das Vorkommen der Trimethoprimresistenz der untersuchten menschlichen E.coli-Stämme mit 1-2 % als gering.

Keine Resistenz-Determinanten konnten in den eigenen Untersuchungen gegenüber Gentamycin festgestellt werden. Nach Untersuchungen von BISCHOFF (1971)ist Gentamycin ein hochwirksames Mittel,das sogar gegen die als besonders resistent geltenden und deswegen gefürchteten Pseudomonaden eine hervorragende Wirkung besitzt.
Eine Bemerkung ist noch zur Species P r o t e u s zu machen.Diese Species weist eine weitgehende natürliche Resistenz gegenüber Tetracyclinen auf (WALTER et al.,1969). Es konnten jedoch in diesen Untersuchungen R-Plasmid-determinierte Resistenzen gegenüber Tetracyclinen festgestellt werden, so daß bei den hier untersuchten Stämmen nicht von einer natürlichen Resistenz gesprochen werden kann.Bei Proteus-Stämmen,bei denen keine R-Plasmid-Übertragungen erfolgten,konnte nicht entschieden werden, ob es sich um eine natürliche oder Plasmid-determinierte Resistenz handelte.Proteus-Stämme sind weiterhin gegenüber Cephaloridin und Colistinsulfat weitgehend natürlich resistent.
In den eigenen Untersuchungen waren die häufigsten Resistenzmuster Kombinationen der oben erwähnten Determinanten.Bei den zweifachresistenten Stämmen waren 24 Stämme (= 11,5%) gegenüber Tetracyclin/Streptomycin,bei den dreifachresistenten 19 Stämme (= 9,2 %)gegen Tetracyclin/Streptomycin/Sulfafurazol und bei den vierfachresistenten Stämmen 7 Stämme (= 3,4 %) gegen Tetracyclin/Streptomycin/Sulfafurazol/Chloramphenicol resistent.Entsprechende Ergebnisse konnten von anderen Untersuchern ermittelt wer-

den,die ähnliche Methoden anwendeten.Auch bei ÜLGEN (1976) kam bei den zweifachresistenten Stämmen am häufigsten die Kombination Oxytetracyclin/Streptomycin vor,bei den dreifachresistenten Stämmen Oxytetracyclin/Streptomycin/Ampicillin und Oxytetracyclin/Streptomycin/Sulfonamide und bei den vierfachresistenten Stämmen Oxytetracyclin/Streptomycin/Ampicillin/Sulfonamide.KNIEWALLNER et al. (1975) gaben die prozentuale Verteilung der Resistenzmuster bei Enterobacteriaceae,isoliert von der Oberfläche von Schlachtschweinen,wie folgt an: Das häufigste Muster war bei den zweifachresistenten Stämmen mit 11,8 % Tetracyclin/Streptomycin.Bei den dreifachresistenten Stämmen dominierten in der Häufigkeit die Kombination Tetracyclin/Streptomycin/Erythromycin mit 21 % und Streptomycin/Tetracyclin/Sulfafurazol mit 10 %,bei den vierfachresistenten Stämmen war das häufigste Muster Streptomycin/Tetracyclin/Erythromycin/Sulfafurazol mit 29 % und Streptomycin/Tetracyclin/Chloramphenicol/Sulfafurazol mit 1,4 %. WALTON (1966) untersuchte E.coli-Stämme von gesunden Schweinen und Rindern. Die häufigsten Resistenzmuster waren Kombinationen der Resistenzdeterminanten gegenüber Tetracyclinen,Streptomycin und Sulfonamiden.Auch ADEN et al.(1969) erhielten bei Untersuchungen von Kälbern und Schweinen mit Neugeborenen-Diarrhoen als häufigstes Resistenzmuster Tetracyclin/Streptomycin/Sulfonamide.

Derartige Ergebnisse können durch die angewendete Untersuchungsmethode beeinflußt sein.So werden in der routinemäßigen Laboratoriums-Diagnostik üblicherweise drei Methoden

eingesetzt,um die Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegenüber Chemotherapeutika zu ermitteln:1.Filter-Papier-Diffusions-Methode (Disk-Test),2.Röhrchenverdünnungstest und 3.der Plattenverdünnungstest.Das Anliegen aller Methoden ist die Feststellung der in vitro-Empfindlichkeit bzw. der minimalen Hemmkonzentration (MIC) der antimikrobiellen Substanzen für den zu untersuchenden Keim.Theoretisch müßten bei Untersuchungen derselben Stämme bei jeder Methode,vorausgesetzt gleiche Bedingungen liegen vor,auch die Ergebnisse die gleichen sein.Jedoch ist es in biologischen Systemen,wie sie bei solchen Untersuchungen vorliegen, sehr schwierig,wenn nicht sogar unmöglich,eine Übereinstimmung der Ergebnisse zu erhalten (ANDERSON,1975).
Die Differenz der Resultate innerhalb eines Laboratoriums ist meist gering.Gewöhnlich sind jedoch bedeutende Unterschiede in den Ergebnissen aus verschiedenen Laboratorien festzustellen.Einige dazu beitragende Faktoren sind z.B. Nährmedienzusammensetzung,Teststernbeschickung,pH-Wert, Inokulum,Inkubation,Agar-Dicke und die individuelle Beurteilung der einzelner Untersucher(WRIGHT,1975).Noch schwieriger sind solche Resultate miteinander zu vergleichen, bei denen die Untersucher verschieden große Chemotherapeutika-Mengen benutzten oder bei denen gar die Ergebnisse infolge unterschiedlicher antimikrobieller Substanzen zustande kamen.Deswegen können solche Ergebnisse nur Tendenzen hinsichtlich der Resistenzverhältnisse aufzeigen,und stark variierende Resultate dürfen nicht verwundern.

R-Plasmid-Übertragungen sind von wichtigen Faktoren abhängig.So sind unterschiedliche Donator- und Akzeptor-Eigenschaften sowohl zwischen den einzelnen Species,ja sogar innerhalb verschiedener Serotypen zu berücksichtigen (ANDERSON et al.,1965;LAKHOTIA et al.,1972;STEPHAN et al., 1971;WIEDEMANN,1972).Bei mehrfachresistenten Stämmen ist die Resistenz stets durch R-Plasmide determiniert.Daher prüften Autoren wie WALTON (1966),LOKEN et al.(1971) die R-Plasmid-Übertragungsfähigkeit stets nur bei solchen Stämmen.Bei einfachresistenten Stämmen ist auch eine durch Mutation oder Adaption bedingte,nicht übertragbare Resistenz möglich.Bei Angaben über R-Plasmid-Übertragungen sind die Species und die Resistenzmuster der verwendeten potentiellen Donatoren zu berücksichtigen. Um die eigenen Befunde mit den bisher mitgeteilten Ergebnissen in der Literatur zu vergleichen ,wurde die Tabelle 21 angefertigt. Danach konnten in der I.(II.) Untersuchungsreihe 23 % (19 %) der einfachresistenten Enterobacteriaceae ihre R-Plasmide auf E.coli K 12 Lactose-positiv bzw. Lactose-negativ übertragen und auf den Akzeptor-Stamm Salmonella typhimurium 21 % der Stämme.Die relativ wenigen R-Plasmid-Übertragungen der einfachresistenten Stämme waren nicht überraschend,da ihre Resistenz auch nicht Plasmid-bedingt sein kann.Bei den mehrfachresistenten Stämmen waren in der I. (II.) Untersuchungsreihe 53 % (34 %) der Stämme in der Lage,R-Plasmide zu übertragen.Bei den Untersuchungen mit Salmonella typhimurium betrug der Prozentsatz 46 %. Das Fehlschlagen der R-Plasmid-Übertragung bei einem Teil der mehrfachresistenten Stämme mag an einer zu niedrigen

Tabelle 21

Literaturangaben über R-Plasmid-Übertragungen unter Laboratoriumsbedingungen

Autoren	Donatoren Species	Herkunft	verwendete Akzeptoren E.coli -	R-Plasmide bei resistenten Stämmen in % mono-	multi-	mono-& multi-
SMITH et al.(1966)	Enterobacteriaceae	Harnwegsinfekt. des Menschen	F S 20 K 12 W_i	41	75	-
WALTON (1966)	E.coli	Rind und Schwein (gesund)	26 :R 6 K 12 F⁻ S.typhi-murium	-	74	-
MITSUHASHI et al. (1967 a)	E.coli Klebsiella Proteus	erkrankte Menschen	O - 26 K 12 W3630	- - -	- - -	84 88 50
MITSUHASHI et al. (1967 b)	E.coli	Schwein	K 12	36	64	-
WALTON (1970)	Coliforme	Rind- und Schweinefleisch	o 26:B 6 K 12 F⁻ S.typhi-murium	-	40	-
LOKEN et al. (1971)	E.coli	Kalb	K 12 S.saintpaul	-	65	-
ALEM et al.(1971)	Enterobacteriaceae	Kalb und Schwein	K 12 F⁻	-	-	75,4
STEPHAN (1975)	Salmonella	Nutztiere u. Lebensmittel	K 12 F	-	-	90-100*
SASSE-PATZER (1977)	Enterobacteriaceae	Schweinefleisch	K 12 F⁻ S.typhi-murium	23 21	53 46	- -

S. = Salmonella * je nach Serotypen wurden unterschiedliche Ergebnisse ermittelt

Übertragungsfrequenz oder auch an der Immobilität der Plasmide gelegen haben. Die für die R-Plasmid-Übertragungen bei mehrfachresistenten Stämmen ermittelten Werte lassen sich nur unter V o r b e h a l t mit den von WALTON (1970) erzielten Ergebnissen vergleichen, da von diesem eine andere Untersuchungsmethode angewendet wurde. Der Autor untersuchte das Vorkommen von R-Plasmid-tragenden Coliformen, die von 400 Rinder- und Schweine-Teilstücken isoliert worden waren. 40 % der multiresistenten coliformen Stämme konnten bei diesem Untersucher ihre R-Plasmide auf E.coli o 26:B oder E.coli K 12 F^- oder auf Salmonella typhimurium übertragen.

Die zu ermittelnden R-Plasmid-Übertragungsergebnisse sind abhängig von den eingesetzten Akzeptoren. Bei Verwendung einer größeren Anzahl verschiedenartiger Akzeptoren könnten bessere Ergebnisse erzielt werden. Nach TSCHÄPE et al. (1974 b) sind Nalidixinsäure-resistente Akzeptoren nicht immer optimal für R-Plasmid-Übertragungszwecke anzusehen. Auch könnten nicht übertragbare Plasmide durch Einführung geeigneter Übertragungsfaktoren (Col-, R-Plasmide) wenigstens z.T. mobilisiert werden (DULANY et al., 1971). Die bei den eigenen Untersuchungen benutzten Akzeptoren sind bezüglich ihrer Empfängereigenschaften für Plasmide als besonders geeignete Teststämme anzusehen, welche unter Feldbedingungen allerdings seltener vorkommen dürften. Daher ist das Ausmaß von R-Plasmid-Übertragungen unter natürlichen Verhältnissen nicht sicher abschätzbar.

Über die verschiedenen Übertragungsfrequenzen von R-

Plasmiden,d.h. über die unterschiedlichen Akzeptor- und Donator-Eigenschaften bezüglich des Übertragungsgeschehens bei den Enterobacteriaceae,berichtete schon WATANABE (1963).Die ermittelten Frequenzen lagen zwischen 10^{-3} und 10^{-7},d.h. nur 1 Zelle von 1 000 bis 10 000 000 resistenten Donatorzellen ist kompetent,ihr R-Plasmid auf eine Akzeptorzelle zu übertragen.Daraus wird ersichtlich,daß z.B. bei einem Stamm mit einer Übertragungsfrequenz von 10^{-7} eine hohe Donator-Keimzahl vorliegen muß,damit eine Übertragung erfolgreich ausgeführt werden kann.Bei den eigenen Untersuchungen konnte bei 37°C innerhalb 1 Stunde bei 10 Stämmen die Frequenz 10^{-4} als häufigste ermittelt werden.Für 15 Stämme konnte keine Frequenz ermittelt werden. Entweder konnte innerhalb der vorgegebenen knappen Zeit die Übertragung nicht erfolgen oder die Anzahl der zur Verfügung stehenden Donatoren war zu gering.Möglicherweise befanden sich die Donatoren auch in einem zellphysiologisch ungünstigen Zustand.Auch andere Autoren berichten von unterschiedlichen Übertragungsfrequenzen nicht nur zwischen einzelnen Enterobacteriaceae,sondern auch zwischen verschiedenen Serotypen einer Species,z.B.bei Salmonellen (DATTA,1962; [illegible] et al.,1969; [illegible] 1969). Über den Einfluß der Temperatur auf die R-Plasmid-Übertragung ist nur wenig bekannt.Das Temperaturoptimum für Plasmid-Übertragungen liegt nach AKIBA und IWAHARA (1961),MITSUHASHI (1965) und LEBEK (1969) zwischen 37°C und 42°C.In den Temperaturbereichen unter 15°C und über 45°C konnte LEBEK (1969) keine Übertragungen feststellen.

Bei 15°C,1o°C und 4°C konnten aber in eigenen Untersuchungen Übertragungen festgestellt werden.Dieses ist ein neuer,in der Literatur bisher nicht verzeichneter Befund,der für die ökologische Fragestellung von ganz entscheidender Bedeutung ist.Um den berechtigten Einwand zu entkräften,daß die Plasmid-Übertragung nicht in der Bouillon-Mischkultur bei den angegebenen Prüftemperaturen,sondern während der Inkubation hat stattfinden können,wurden Donator- und Akzeptor-Bouillon auf Antibiotika- und Nalidixinsäure-haltige GASSNER-Platten mit einem Spatel gemischt und danach bei 37°C 24 Stunden bebrütet.Es konnten in keinem Fall resistente Akzeptoren ermittelt werden,da die Zusätze des Selektivmediums sofort nach dem Auftragen der Bouillon eine hemmende Wirkung auf die Keime ausübten und somit eine Übertragung der Plasmide verhinderten.Die in eigenen Untersuchungen ermittelten Ergebnisse lassen die Tendenz erkennen,daß mit Abnahme der Temperatur auch die Übertragungen abnahmen. Bei 15°C übertrugen noch 18 (= 5o %) der Stämme,bei 1o°C 16 (= 45 %) und bei 4°C 14 (= 39 %) der Stämme ihre R-Plasmide.Diese Daten wurden in mehreren Versuchen ermittelt,deren Hauptanliegen es war,den Beweis zu erbringen,daß auch in niedrigen Temperaturbereichen R-Plasmid-Übertragungen stattfinden können.Damit wird deutlich,daß optimale Temperaturen,d.h. solche zwischen 37°C und 42°C,nicht Voraussetzung für R-Plasmid-übertragungen sind.Danach kann sich der Transfer von Plasmiden auch in anderen Biotopen als im Darmtrakt unter Feldbedingungen ereignen.

Welche Bedeutung dem Transfer-Vorgang außerhalb des Intestinaltraktes unter n a t ü r l i c h e n B e d i n g u n g e n für die Verbreitung von Plasmiden zuzumessen ist,läßt sich abschätzen,wenn die anderen Faktoren wie z.B.Akzeptor- bzw.Donator-Species,pH-Wert,Sauerstoffverhältnisse,die ebenfalls für die Übertragungen eine Rolle spielen,berücksichtigt werden.

Die Übertragungsfrequenzen bei 4°C ließen folgende Tendenzen erkennbar werden.Bei 7 Stämmen blieb die Übertragungsfrequenz bei 4°C im Vergleich zu 37°C konstant.Bei 14 Stämmen konnte eine um 1 bis 2 Zehnerpotenzen verringerte Frequenz im 4°C-Bereich festgestellt werden;also z.B. $1o^{-5}$ anstelle von $1o^{-3}$. 23 Stämme konnten innerhalb der vorgegebenen Zeit von einer Stunde ihre Plasmide nicht mehr übertragen.Damit konnte gezeigt werden,daß mit Absinken der Temperatur mit einer absteigenden Tendenz der R-Plasmid-Übertragungs-Frequenz zu rechnen ist.

Die nicht zufriedenstellende Reproduzierbarkeit bei den R-Plasmid-Übertragungs-Ergebnissen im gleichen Temperaturbereich ist folgendermaßen zu erklären:Der R-Plasmid-Übertragungs-Vorgang ist von verschiedenen Faktoren abhängig.So spielt der physiologische Zustand der Bakterienzellen hinsichtlich der R-Plasmid-Übertragung eine Rolle (WIEDEMANN,1975).Dieser kann trotz genauester Einhaltung der Versuchsbedingungen hinsichtlich der Übertragbarkeit einzelner Determinanten

auch des gesamten Plasmides differieren.Es können hemmende Mechanismen vorliegen,die den Übertragungsvorgang unterdrücken (= Repression durch regulierend wirkende Gene)(MEYNELL et al.,1967).Weiterhin ist bekannt,daß nur einige wenige Zellen innerhalb einer R-Plasmid-tragenden Population Pili ausbilden,d.h.nur ein bestimmter Teil der Keimpopulation ist zur Konjugationkompetent.Die Ursache ist darin zu sehen,daß bei R-Plasmiden die Pilisynthese reprimiert ist (MEYNELL et al.,1968).Auch kann der Übertragungsfaktor durch Segregation (= Verlust von DNS-Material während der Replikation) verloren gehen (ANDERSON et al.,1967). Welche der angesprochenen Faktoren bei niedrigen Temperaturen eine Rolle während des Konjugationsvorganges spielen,geht aus den Literaturangaben nicht hervor.Dies ist auch nicht erstaunlich,da bisher angenommen wurde, daß Plasmid-Übertragungen unter 15°C nicht möglich sind. Aus diesem Grunde wurde dem Temperatureinfluß auf die R-Plasmid-Übertragung bisher keine Beachtung geschenkt.

Das Anliegen der R-Plasmid-Übertragungs-Versuche in zerkleinertem Schweinefleisch bzw.auf der Fleischoberfläche bestand darin festzustellen,ob auch in diesem Milieu bei niedrigen Temperaturen Übertragungen stattfinden.Die zu den Experimenten verwendeten Donator- und Akzeptor-Keimmengen mußten recht hoch gewählt werden,d.h. die Keimmenge betrug mindestens $1o^4$ Donator- bzw.Akzeptor-Zellen pro ml aufgetragene bzw.eingemischte Flüssigkeit.So wurde eine nachträgliche Keim-

anreicherung zur Feststellung der R-Plasmid-Übertragungen nicht erforderlich.Nur so konnte eine Aussage über den Ort der Übertragung,d.h. im Fleisch,gemacht werden. Ein störender Einfluß der ursprünglich vorhandenen Fleisch-Keimflora auf die Donatoren bzw.Akzeptoren war, soweit dies zu ermitteln war,sowohl quantitativ als auch qualitativ als gering zu bewerten.Die pH-Werte im Fleisch zwischen 5,7 und 6,3 lagen in einem für R-Plasmid-Übertragungen als günstig anzusehenden Bereich (WIEDEMANN,1972).

Im zerkleinerten Schweinefleisch konnten bei 22°C 21 Stämme,bei 1o°C 18 Stämme und bei 4°C 7 Stämme ihre Plasmide übertragen.Auch hier wurde offensichtlich,daß bei niedrigen Temperaturen eine Verminderung der R-Plasmid-Übertragung auftritt.Das Fehlschlagen der R-Plasmid-Übertragung beim 5.Versuch ist vermutlich auf die zu geringe eingemischte Akzeptor- und Donator-Keimmenge zurückzuführen.

Auch bei den R-Plasmid-Übertragungs-Versuchen auf der Fleischoberfläche mit gering aufgetragenen Keimmengen (ca $1o^4$ Donator- bzw.Akzeptor-Zellen/ml Flüssigkeit) konnte die Temperaturabhängigkeit der R-Plasmid-Übertragungen festgestellt werden.Bei 1o°C und 4°C erfolgten erst nach Erhöhung der aufgetragenen Keimmengen (ca.$1o^8$ Donator-bzw.Akzeptor-Zellen/ml aufgetragene Flüssigkeit)Übertragungen.Bei sehr hohen Keimmengen, d.h. über $1o^8$ Donator- bzw.Akzeptor-Zellen/ml Flüssigkeit wurden aufgetragen,konnte bei 4°C für 30 (= 83 %)

Stämme eine Plasmid-Übertragung ermittelt werden.Damit konnten in diesen Versuchen auch solche Stämme ihre Plasmide übertragen,die im Bouillon-Versuch bei 4°C versagt hatten.Eine Erklärung hierfür könnten die günstigeren Sauerstoffverhältnisse auf der Fleischoberfläche sein.Aber auch die hier größere vorhandene Keimmenge mag Einfluß gehabt haben,so daß auch Stämme mit einer sehr niedrigen Übertragungsfrequenz Übertragungen ausführten.

Die Ergebnisse der Überprüfung der Vermehrungsfähigkeit der R-Plasmid-tragenden Donator-Stämme in niedrigen Temperaturbereichen sind nicht erstaunlich.HECHELMANN et al.(1973) konnten als besonders kältetolerante Species Enterobacter und Klebsiella feststellen.Eine weitere Untersuchung von HECHELMANN et al.(1974)ergab,daß bei Klebsiella-,Enterobacter-,Hafnia- und Serratia-Stämmen, die aus Fleisch und Fleischprodukten isoliert worden waren,eine Vermehrungsfähigkeit unter +5°C festgestellt werden konnte.Auch BERNER (1969) stellte Kältetoleranz bei E.coli-,Klebsiella-,Enterobacter-,Serratia- und Hafnia-Stämmen fest.

Über die gute Eignung der Trübungsmessung zur Feststellung der Vermehrungsfähigkeit von Bakterien berichteten REIS et al.(1959) und HEIN et al.(1961).In den eigenen Untersuchungen wurde für j e d e n Stamm eine Eichkurve angefertigt;damit konnte die Zuverlässigkeit der Ergebnisse gewährleistet werden.

Die in eigenen Untersuchungen ermittelten Daten für die Colicinproduktion wurden mittels eines einzigen Detektorstammes erzielt.Bei der Species E.coli konnte bei 27 % der Stämme eine Colicinproduktion aufgezeigt werden.Mit dem eingesetzten Suchstamm konnten auch entsprechende Bacteriocine bei den Species Klebsiella (5 Stämme =11%),Enterobacter (1 Stamm =2%),Hafnia (2 Stämme =8,3 %),Proteus (3 Stämme =18,7%),Citrobacter (2 Stämme =13,3%) und Serratia (4 Stämme =57%)ermittelt werden.Auffallend ist,daß von den insgesamt 7 untersuchten Serratia-Stämmen die relativ hohe Anzahl von 4 Stämmen eine Bacteriocinproduktion aufwies.Die Übertragbarkeit der Bacteriocin-vermittelnden Plasmide wurde für E.coli mit 43 %,für Klebsiella mit 40 % und für Proteus mit 33 % ermittelt.Bei 13 Col- und R-Plasmid-tragenden Stämmen konnten die R-Plasmide übertragen werden.Bei 12 (= 92%)von diesen Stämmen war auch das Col-Plasmid übertragbar.Daraus ergibt sich,daß bei gleichzeitigem Vorliegen von Col- und R-Plasmiden eine Übertragbarkeit dieser Plasmide mit hoher Wahrscheinlichkeit gegeben ist.

Beim Vergleichen dieser Ergebnisse mit denen anderer Autoren ist zu beachten,daß,je größer die Anzahl der eingesetzten Indikator-Stämme ist,desto größer auch die Zahl der ermittelten Bacteriocin-positiven Stämme wird.NOVAKOVA et al.(1969) untersuchten 301 Tetracyclin-resistente E.coli-Stämme,die von Schweinen isoliert worden waren,auf Colicin-Vorkommen.Dabei

wurden 5 Detektor-Stämme eingesetzt.Bei 3o % der Stämme konnten die Untersucher Colicinproduktion nachweisen.WALTON (197o) gab an,daß 4o % der vom Fleisch isolierten Stämme Colicin bildeten.Nach NOVAKOVA et al.(1969) konnten 17 (=19%) von 9o Colicin-produzierenden Stämmen die Col-Plasmide übertragen.

Anlaß für die Einbeziehung des Nachweises von Col-Plasmiden in die vorgelegte Untersuchung war die allgemeine Erkenntnis,daß sich Col-Plasmide auf die Verbreitung von R-Plasmiden auswirken können.Col-Plasmide bestehen aus zwei Struktureinheiten,der DNS-Einheit,welche die Colicinproduktion steuert,und derjenigen,die für die Übertragung des Plasmides verantwortlich ist.Daher verleiht ein Col-Plasmid nicht nur dem Mikroorganismus günstigere Vermehrungsbedingungen gegenüber anderen Organismen,sondern auch einen Übertragungsfaktor für Plasmide.Dieser Übertragungsfaktor kann auch andere Plasmide,z.B.defekte,nicht übertragbare R-Plasmide, vermitteln und somit zur Ausbreitung von Plasmiden beitragen.

Ob eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch die orale Aufnahme R-Plasmid-tragender Bakterien tierischen Ursprungs zu befürchten ist,konnte bisher nicht entschieden werden.Die mögliche Bedrohung wird darin gesehen,daß Antibiotika-resistente Stämme tierischen Ursprungs den Verdauungstrakt des Menschen erreichen,sich dort vermehren und ihre R-Plasmide auf die vorhandene nicht-pathogene Enterobacteriaceae-Flora übertragen. Von dieser residenten Darmflora könnten R-Plasmide

auf beliebige pathogene Enterobacteriaceae,mit denen sich der Mensch infiziert,übertragen werden,und infolge der Resistenz könnten ernsthafte Therapieschwierigkeiten entstehen.

Folgende Aspekte sprechen für eine Gefährdung des Menschen:

a)Nutztiere sind als Reservoir R-Plasmid-tragender Bakterien anzusehen,da infolge der excessiven Chemotherapeutika-Anwendung(Futterzusätze,Prophylaxe,Therapie) eine Selektion Chemotherapeutika-resistenter Mikroorganismen stattfindet (BULLING et al.,1971,1972).

b)das Vorkommen R-Plasmid-tragender Enterobacteriaceae in bzw. auf Fleisch oder Fleischprodukten ist gegeben (MOORHOUSE et al.,1969;WALTON,197o;COOKE et al.,1971; BABCOCK et al.,1973).

c)Zwischen den Resistenzmustern von Coliformen der Darmflora des Menschen,die engen Kontakt zu Tieren hatten,und den Resistenzmustern von Nutztieren konnten enge Beziehungen aufgezeigt werden (FEIN et al.,1974).

d)R-Plasmid-Übertragungen in vivo konnten experimentell bei Tieren (KASUYA,1964;GUINEE,197o;WALTON 1966 a;REED et al.,1969) und beim Menschen (SMITH,1967;WASHINGTON, 1972)demonstriert werden.

Gegen eine bedenkliche Bedrohung der menschlichen Gesundheit durch die resistente Flora der Nutztiere spricht folgendes:

a)Der Mensch ist ebenfalls als Reservoir für R-Plasmid-tragende Mikroorganismen anzusehen,da Chemotherapeutika bei diesem in viel stärkerem Maße zum Einsatz gelangen

als in Tierpopulationen.

b)Auch in anderen Biotopen,z.B.Abwässern,kommen R-Plasmid-tragende Enterobacteriaceae vor (SMITH,197o a; HUGHES et al.,1974).Über Gemüse und Salate können diese Bakterien den Menschen erreichen.

c)Die den Menschen über das Fleisch erreichenden Enterobacteriaceae-Keimzahlen,insbesondere auf hitzebehandeltem Fleisch,sind relativ gering (SMITH,1974 a).Für rohes Rindergehacktes ermittelte WALTON (197o) den Durchschnittswert von 1o x $1o^2$ Coliformen/g bei 8 x $1o^7$ Gesamtkeimen/g Fleisch.Bei Untersuchungen von DEDEKEN (1969) konnten im Hackfleisch $1o^1$ bis $1o^6$ Coliforme/g Fleisch ermittelt werden,auch FIEVEZ et al.(1969) gaben für Rindergehacktes bei 67 % der Proben eine E.coli-Zahl zwischen o,8 x $1o^1$ bis $1o^3$ /g Fleisch an.

d)Nach ÜLGEN (1976) ist eine mögliche Gesundheitsgefährdung des Menschen nicht ausschließlich durch resistente Enterobacteriaceae-Stämme aus der Körperflora der Tiere,sondern auch aus dem Verarbeitungs- und damit aus dem menschlichen Bereich zu erwarten.Im Laufe der Verarbeitung des Fleisches kam es nämlich zu einer Umschichtung der resistenten Enterobacteriaceae-Flora.

e)GARDENER et al.(1969) konnten bei Bewohnern der Solomon-Inseln aus Faecesproben R-Plasmid-tragende E. coli mit Determinanten gegenüber Tetracyclin und Streptomycin isolieren,obwohl diese Personengruppe nachweislich niemals mit Chemotherapeutika in Berührung gekommen war.

f)keine Übereinstimmung der Resistenzmuster und der R-Plasmid-Übertragungsfähigkeit zwischen E.coli-Stämmen aus der menschlichen Darmflora und den aus Fleisch isolierten Stämmen konnten von BABCOCK et al. (1973)ermittelt werden.MARSIK (1973) konnte ebenfalls keine übereinstimmenden Resistenzmuster und R-Plasmid-Übertragungseigenschaften bei E.coli- und Salmonella-Stämmen tierischen Ursprungs feststellen.

g)Voraussetzung für R-Plasmid-Übertragungen in vivo ist die ungehinderte Magenpassage der Bakterien und die Aufnahme einer genügend hohen Keimzahl.SMITH (1969) konnte nur nach Gaben von 10^9 lebensfähigen Organismen eine Besiedelung des menschlichen Darmtraktes mit einem Donator-Stamm erreichen.Auch bei Ansiedelung der Stämme waren Plasmid-Übertragungen selten.Unter natürlichen Gegebenheiten ausgeführte R-Plasmid-Übertragungsversuche an Schweinen (JAROLEM et al.,1969) und beim Menschen (KNOTHE et al.,1973) zeigten,daß bei Schweinen eine R-Plasmid-Übertragung ein seltenes Ereignis war. Beim Menschen konnten praktisch keine Übertragungen festgestellt werden.

h)R-Plasmid-Übertragungen können auch unter 37°C und außerhalb des Intestinaltraktes bei 25° und 22°C (TERAWAKI et al.,1967;SMITH,1974 b) und nach eigenen Untersuchungen auch noch bei 15°,10° und sogar bei 4°C stattfinden.

Eine Beurteilung,inwieweit die in letzter Zeit diskutierten Virulenz-Plasmide (TSCHÄPE et al.,1974a) oder auch die Col-Plasmide eine Bedeutung für die

Epidemiologie der R-Plasmide besitzen und ob sie selber für die menschliche Gesundheit eine Gefahrenquelle darstellen, kann noch nicht erfolgen. Es müssen noch die Ergebnisse zukünftiger Untersuchungen über die Häufigkeit ihres Auftretens und Verbreitungsmodus abgewartet werden.

Bei Betrachtung der aufgeführten Aspekte ergibt sich zusammenfassend folgendes: Da R-Plasmid-tragende Enterobacteriaceae tierischen Ursprungs auf bzw. im Fleisch vorhanden sind, muß diesen hinsichtlich der ökologischen Prozesse, die sich vom Tier in Richtung Mensch abspielen, als Vehikel Beachtung geschenkt werden. Inwieweit eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch R-Plasmide dieser i.d.R. apathogenen Fleischflora möglich ist, ist nur abschätzbar, wenn das komplexe Geschehen der Epidemiologie sowohl der R-Plasmid-tragenden Bakterien als auch der R-Plasmide für sich selbständig betrachtet und die vielfältigen Faktoren (Donator-, Akzeptor-Eigenschaften, Besiedelungsfähigkeit des Intestinaltraktes, Persistenz etc.) berücksichtigt werden. Danach kann angenommen werden, daß R-Plasmid-tragende Enterobacteriaceae tierischen Ursprungs mit Fleisch den Menschen erreichen und daß bei günstigen Verhältnissen, wie Vermehrung und gute Donator- und Akzeptor-Eigenschaften, auch in vivo R-Plasmid-Übertragungen vorkommen. Das Ausmaß dieser Vorgänge scheint jedoch gering zu sein, da die beim Menschen vorkommenden Resistenzmuster und die Übertragbarkeit der Plasmide sich von denen tierischer Herkunft deutlich unterscheiden und die experimentell

in vivo durchgeführten R-Plasmid-Übertragungen unter natürlichen Gegebenheiten nur selten zum Erfolg führten.

Es sollte nach epidemiologischen Kennzeichen, z.B. DNS-Strukturmerkmalen, gesucht werden, mit denen die Bakterienplasmide nach ihrer Herkunft in solche menschlichen und tierischen Ursprungs unterschieden werden können. In Zukunft könnten dann detailliertere Aussagen über den Verbreitungsweg gemacht werden.

Wie die eigenen Untersuchungen zeigten, ist ein Teil der Bakterien auch noch bei niedrigen Temperaturen in der Lage, sich zu vermehren und, bei Vorhandensein genügend hoher Ausgangskeimzahlen, ihre R-Plasmide zu übertragen. Daher ist auch außerhalb des Intestinaltraktes mit R-Plasmid-Übertragungen zu rechnen. Als geeignetes Biotop kommt z.B. Wasser in Frage. Daher muß dem O r t der R-Plasmid-Übertragung ebenfalls Beachtung geschenkt werden.

E. Schlußfolgerungen

Die bei Enterobacteriaceae in Fleisch und Fleischprodukten vorkommenden R- und Col-Plasmide sind nicht an bestimmte Species gebunden.

Die Plasmide sind in vitro sowohl auf E.coli- als auch auf Salmonella-Akzeptoren übertragbar.

Die R-Plasmid-Übertragungen finden unter experimentellen Bedingungen auch auf der Fleischoberfläche und im zerkleinerten Fleisch statt.

Die Plasmid-Übertragungen sind auch bei niedrigen Temperaturen sowohl in Bouillon-Mischkulturen als auch auf und im Fleisch bis hinab zu $4^{o}C$ möglich.

Voraussetzungen für den Nachweis von R-Plasmid-Übertragungen sind genügend hohe Donator- und Akzeptor-Keimzahlen. Um eine methodisch nachweisbare Übertragungsfrequenz von $1o^{-6}$ zu erhalten, sind $1o^{8}$ Keime/ml notwendig.

Die Übertragungsfrequenz der R-Plasmide nimmt mit sinkender Temperatur ab.

R-Plasmid-tragende Bakterien der Species Salmonella, Hafnia, Enterobacter und Klebsiella sind bei niedrigen Temperaturen (bis $4^{o}C$) vermehrungsfähig.

Eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch R-Plasmid-tragende Bakterien tierischen Ursprungs, die den Menschen über Fleisch und Fleischerzeugnisse erreichen, scheint möglich, ist aber sicher nur selten gegeben.

Die nachgewiesene R-Plasmid-Übertragung auch bei niedrigen Temperaturen (15^{o}, $1o^{o}$, $4^{o}C$) macht deutlich, daß eine Verbreitung resistenter Bakterien und ihrer Plasmide auch auf anderem Wege als über das Fleisch stattfinden

F. Zusammenfassung

Im Anschluß an die Untersuchungen von [illegible] (1976) wurden 300 Stämme, die eine repräsentative Auswahl von resistenten Enterobacteriaceae von Schweine-Schlachttierkörpern-, Teilstücken, -Hackfleisch darstellten sowie 27 Stämme aus Gefriergeflügel und 22 Sammlungsstämme ohne Angabe der Erstisolierung auf das Vorkommen von Antibiotikaresistenz, Colicinogenie und R-Plasmiden und deren Übertragungsfrequenz bei unterschiedlichen Temperaturen untersucht mit dem Ziel, eine mögliche Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch R-Plasmid-tragende Bakterien tierischen Ursprungs abzuschätzen.

Mit Hilfe von 13 verschiedenen Chemotherapeutika, die sowohl nach human- als auch nach veterinär-medizinischen Aspekten ausgewählt worden waren, wurden 52 verschiedene Resistenzmuster ermittelt. Bis zu 6 Resistenz-Determinanten konnten kombiniert sein. 34 % der Stämme waren monoresistent und 66 % multiresistent.

Bei 15 % der Stämme konnten Colicin bzw. eine Colicin-ähnliche Substanz ermittelt werden. Bei 12 (=32 %) der colicinogenen Stämme konnte der Nachweis einer Plasmid-determinierten Colicinproduktion und ein Übertragungsfaktor aufgezeigt werden.

Mit E.coli K 12 -Akzeptor-Stämmen, Lactose-positiv bzw. -negativ, wurden bei 35 % bzw. 23 % der resistenten Stämme R-Plasmide ermittelt. Ein Salmonella typhimurium-Akzeptor-Stamm konnte ebenso gut R-Plasmide

aufnehmen,und zwar von 32 % der resistenten Stämme.

R-Plasmid-Übertragungen konnten im Modellversuch in Bouillon mit 36 ausgewählten Donator-Stämmen in und auf Fleisch bis hinab zu 4°C nachgewiesen werden. Dabei war eine Temperaturabhängigkeit der Häufigkeit von R-Plasmid-Übertragungen feststellbar.Bei 22°C bestand noch kein Unterschied zu 37°C,bei weiter erniedrigten Temperaturen übertrugen aber nur noch 56 - 47 % der Stämme ihre R-Plasmide.Bei 15°C waren es 53 %,bei 10°C 56 % und bei 4°C 47 %.

Die abnehmende Häufigkeit der Übertragungen mag durch geänderte R-Plasmid-Übertragungsfrequenzen bedingt gewesen sein.Bei 14 Stämmen konnte eine um 1 bis 2 Zehnerpotenzen verringerte Frequenz bei 4°C im Vergleich zu 37°C festgestellt werden,also z.B. 10^{-5} anstelle von 10^{-3}.Während bei 37°C 50 % der Stämme ihre R-Plasmide mit einer Frequenz von 10^{-3} bis 10^{-5} übertrugen,betrug der Prozentsatz bei 4°C dagegen nur 24,9 %.

Die Überprüfung der unteren Wachstumsgrenztemperaturen R-Plasmid-tragender Stämme ergab,daß sich bei 8°C 30 Stämme (=83%)vermehrten.E.coli-Stämme zeigten schwaches Wachstum.Bei 4°C konnte bei 8 Stämmen (=22%) der Species Salmonella,Hafnia,Enterobacter und Klebsiella noch Vermehrungsfähigkeit festgestellt werden.

Eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch R-Plasmid-tragende Bakterien tierischen Ursprungs, die den Menschen über Fleisch und Fleischerzeugnisse

erreichen, scheint möglich, ist aber sicher nur selten gegeben.

Die nachgewiesene R-Plasmid-Übertragung bei niedrigen Temperaturen (15°C, 10°C und 4°C) macht deutlich, daß eine Verbreitung resistenter Bakterien und ihrer Plasmide auch auf anderem Wege als über das Lebensmittel Fleisch stattfinden kann.

Summary

Following investigations of ÜLGEN (1976),200 strains were tested,showing a representative selection of resistant Enterobacteriaceae from carcass of hogs, hog cuts,hog mincemeat,and 27 strains from frozen poultry meat,and 22 strains from the institute-owned strain collection without declaration of first isolation,concerning the occurence of antibiotic resistance,of colicinogeny ,and of R-plasmid and their transfer frequency at different temperatures, aiming at the evaluation of possible hazard to human health by R-plasmid carrying bacteria of animal origin.

52 resistance patterns of a different kind were established through 13 different chemotherapeutics,selected by human and veterinary aspects.Up to 6 resistance-determinants were possibly combined. 34 % of the strains were monoresistent and 66 % multiresistent.

In 15 % of the strains colicine or a colicin resembling substance could be determined. In 12 (= 32 %) of the colicinogeneous strains proof of a plasmid determined colicin production and a transfer factor could be shown.

With E.coli K 12 acceptor strains,lactose positive and lactose negative respectively, in 35 % and 23 % of the resistant strains respectively,R-plasmids were determined. A Salmonella typhimurium acceptor strain was able to take up R-plasmids as well,and that from 32 % of the resistant strains.

Evidence was secured by pilot test of R-plasmid trans-

fer in broth using 36 selected donator-strains,in and on meat as far down as 4°C.In this a temperature dependence in the frequency of R-plasmid transfer was detectable. At 22°C there was still no difference to 37°C;at further decreasing temperatures only but 56 -47 % of the strains transferred their R-plasmids.At 15°C there were 53 %,at 10°C 56 %,and at 4°C 47 %.

The decreasing frequency of transfers might have been caused by changed R-plasmid transferfrequencies.In 14 strains a frequency lowered by 1 to 2 powers could be ascertained at 4°C,in comparison to 37°C;thus e.g. 10^{-5} instead of 10^{-3}.While 50 % of the strains transferred their R-plasmids at 37°C with a frequency of $1o^{-3}$ to 10^{-5}, the percentage at 4°C amounted to 24,9 %,however.

The control of the lower growth limit temperatures of R-plasmid carrying strains yielded 30 (= 83 %) to multiply at 8°C. E.coli showed a poor growth rate.At 4°C in 8 strains (= 22 %) of the species Salmonella,Hafnia,Enterobacter,and Klebsiella propagation ability still could be secured.

Hazard to human health by R-plasmid carrying bacteria of animal origin,reaching humans by the foodstuff meat and meat products,seems to be possible,but does occur but rarely.

The ascertained R-plasmid transfer at low temperatures (15,10 and 4°C) elucidates the distribution of resistant bacteria and their plasmids to be possibly too by other ways than foodstuff meat.

G. Anhang

In den Tabellen 22 - 29 wird für jeden einzelnen Stamm die Herkunft, sein Resistenzspektrum*, die Anzahl der Resistenz-Determinanten, die Colicinbildungsfähigkeit, die Übertragbarkeit des Col- und R-Plasmides und das von den Akzeptorstämmen E.coli K 12 lac+ bzw. lac - und Salmonella typhimurium erworbene Resistenzspektrum** angegeben.

* die Resistenzspektren wurden unter Berücksichtigung folgender Antibiotika aufgestellt: Tetracyclin (TE) = 10 mcg, Streptomycin (S) = 10 mcg, Kanamycin (K) = 30 mcg, Chloramphenicol (C) = 30 mcg, Ampicillin (PM) = 10 mcg, Carbenicillin (PY) = 100 mcg, Cephaloridin (CR) = 25 mcg, Colistinsulfat (CT) = 10 mcg, Furazolidon (FR) = 50 mcg, Sulfafurazol (G) = 500 mcg, Sulfamethoxazol/Trimethoprim (SXT) = 25 mcg, Gentamycin (CN) = 10 mcg, Trimethoprim (W) = 5 mcg.

** mit den Akzeptoren wurde die Übertragbarkeit folgender R-Determinanten überprüft: Tetracyclin (TE) = 30 mcg, Streptomycin (S) = 10 mcg, Kanamycin (K) = 30 mcg, Chloramphenicol (C) = 30 mcg, Ampicillin (PM) = 10 mcg, Furazolidon (FR) = 50 mcg.

diese Symbole gelten ebenfalls für die Tabellen 22 -29

Schk. = Schlachttierkörper vom Schwein; Tst. = Teilstücke vom Schwein; Hack = Hackfleisch vom Schwein; Gefl. = Gefriergeflügel; Sta. = Stammsammlung

Tabelle 22

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
1	E.coli	Schk.	TE PN PY	III			+	TE PN
2	E.coli	Schk.	TE PN PY	III			+	TE PN
3	E.coli	Schk.	TE S G	III	+	-	+	S
4	E.coli	Schk.	TE S G FR	IV				
5	E.coli	Schk.	TE S G	III	+	-		
6	E.coli	Schk.	TE	I				
7	E.coli	Schk.	TE S	II	+	+	+	TE S
8	E.coli	Schk.	TE S G	III	+	+	+	TE S
9	E.coli	Schk.	TE	I				
10	E.coli	Schk.	TE	I				
11	E.coli	Schk.	TE S FR	III			+	TE S
12	E.coli	Schk.	TE G	II	+			
13	E.coli	Schk.	TE CR	II				
14	E.coli	Schk.	TE G	II				
15	E.coli	Schk.	TE	I				
16	E.coli	Schk.	TE	I				
17	E.coli	Schk.	TE S G	III			+	TE S
18	E.coli	Schk.	TE S	II			+	TE S
19	E.coli	Schk.	TE S	II	+	-		
20	E.coli	Schk.	sensibel					
21	E.coli	Schk.	TE G	II				
22	E.coli	Schk.	TE G	II				
23	E.coli	Schk.	TE	I				
24	E.coli	Schk.	TE G	II				
25	E.coli	Schk.	TE	I				
26	E.coli	Schk.	TE S G	III			+	TE S
27	E.coli	Schk.	TE G	II	+	+		
28	E.coli	Schk.	TE S	II	+			
29	E.coli	Schk.	TE	I	+			

Tabelle 23

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
30	E.coli	Schk.	TE S G	III				
30	E.coli	Schk.	TE	I			*	TE
33	E.coli	Schk.	TE S	II	+	+	+	TE S
34	E.coli	Schk.	TE	I				
35	E.coli	Schk.	S	I	+	+	+	S
36	E.coli	Schk.	TE S	II				
37	E.coli	Schk.	TE S G	III			+	TE
38	E.coli	Schk.	TE S G FR	IV				
39	E.coli	Schk.	S G	II	+			
40	E.coli	Schk.	TE S G C	IV	+	+	+	TE S C
41	E.coli	Schk.	TE G	II	+			
42	E.coli	Schk.	TE S G C	IV	+	-	+	TE S C
43	E.coli	Schk.	TE S G C	IV	+	-	+	TE S C
44	E.coli	Schk.	TE S	II				
45	E.coli	Schk.	TE S C	III			+	TE S C
46	E.coli	Schk.	TE S G	III				
47	E.coli	Schk.	S G	II				
48	E.coli	Schk.	TE S PN G PY	V			+	PN
49	E.coli	Schk.	TE S	II			+	S
50	E.coli	Schk.	S G	II				
51	E.coli	Schk.	TE S G	III				
52	E.coli	Schk.	TE S G C	IV				
53	E.coli	Schk.	TE G	II				
54	E.coli	Schk.	TE S G	III				
55	E.coli	Schk.	TE S	II			+	TE S
56	E.coli	Schk.	G	I				
57	E.coli	Schk.	TE S PN PY	IV			+	S PN
58	E.coli	Schk.	TE	I				
59	E.coli	Schk.	TE S PN	III	+	+	+	TE S
60	E.coli	Tst.	TE S	II				
61	E.coli	Tst.	TE PN G FR PY	V			+	PN
62	E.coli	Tst.	TE S	II			+	S

Tabelle 24

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
63	E.coli	Tst.	TE S G	III	*	*	*	S
64	E.coli	Schk.	S PN G C	IV			+	S C
65	E.coli	Schk.	TE	I				
66	E.coli	Tst.	TE S G	III			+	TE S
67	E.coli	Tst.	TE S	II			+	TE S
68	E.coli	Tst.	TE G	II				
69	E.coli	Tst.	TE	I				
71	E.coli	Hack	TE S	II			+	TE S
72	E.coli	Hack	TE S	II				
73	E.coli	Hack	TE S G C	IV				
74	E.coli	Hack	TE	I				
75	E.coli	Hack	TE S G	III				
76	E.coli	Hack	TE G C	III				
77	E.coli	Sta.	SENSIBEL					
78	E.coli	Gefl.	S	I			+	S
79	E.coli	Gefl.	G	I				
80	E.coli	Sta.	TE	I	+	+	+	TE
100	Klebsiella	Schk.	TE S G	III				
101	Klebsiella	Schk.	TE	I				
102	Klebsiella	Schk.	TE	I				
104	Klebsiella	Schk.	TE	I			+	TE
105	Klebsiella	Schk.	TE	I			+	TE
106	Klebsiella	Schk.	TE	I				
108	Klebsiella	Schk.	TE S FR CT	IV				
110	Klebsiella	Schk.	TE S G	III				
111	Klebsiella	Schk.	TE S G	III	+	+	+	S
112	Klebsiella	Schk.	TE S	II				
113	Klebsiella	Schk.	TE S G C	IV			+	TE S C
114	Klebsiella	Schk.	TE S G	III				
115	Klebsiella	Schk.	TE	I	+			
109	Klebsiella	Schk.	TE S G	III				

Tabelle 25

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
116	Klebsiella	Schk.	TE S	II			*	TE S
118	Klebsiella	Tst.	SENSIBEL					
119	Klebsiella	Tst.	TE	I	+	-		
120	Klebsiella	Tst.	TE	I	+	+	+	TE
121	Klebsiella	Tst.	SENSIBEL					
122	Klebsiella	Tst.	PN	I				
123	Klebsiella	Tst.	PN G	II				
124	Klebsiella	Tst.	SENSIBEL					
125	Klebsiella	Tst.	TE	I				
126	Klebsiella	Tst.	TE	I			+	TE
127	Klebsiella	Tst.	SENSIBEL					
128	Klebsiella	Tst.	TE	I				
130	Klebsiella	Hack	TE G CR	III				
131	Klebsiella	Hack	CR	I				
132	Klebsiella	Hack	TE S C G CR FR	VI			+	TE S C
133	Klebsiella	Hack	TE S PN	III			+	TE S PN
134	Klebsiella	Hack	TE	I				
136	Klebsiella	Hack	SENSIBEL					
137	Klebsiella	Hack	SENSIBEL					
138	Klebsiella	Hack	TE	I				
139	Klebsiella	Hack	TE	I				
140	Klebsiella	Hack	TE	I				
141	Klebsiella	Hack	TE S CT	III			+	TE S
142	Klebsiella	Hack	TE S CR SXT	IV	+	-		
143	Klebsiella	Hack	TE	I				
145	Klebsiella	Sta.	PN PY	II				
146	Klebsiella	Gefl.	SENSIBEL					
147	Klebsiella	Gefl.	SENSIBEL					
148	Klebsiella	Sta.	TE	I				
200	Enterobacter	Schk.	TE CR	II				
135	Klebsiella	Hack	SENSIBEL					
144	Klebsiella	Hack	SENSIBEL					

Tabelle 26

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzmuster*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
201	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
202	Enterobacter	Schk.	S CR	II				
203	Enterobacter	Schk.	TE CR	II				
204	Enterobacter	Schk.	S CR	II			*	S
205	Enterobacter	Schk.	TE CR PN	III				
206	Enterobacter	Schk.	CR PN	II				
207	Enterobacter	Schk.	CR	I				
208	Enterobacter	Schk.	TE CR G	III				
209	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
210	Enterobacter	Schk.	G PN	II			+	PN
211	Enterobacter	Schk.	CR	I				
212	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
213	Enterobacter	Schk.	S CR G PN	IV				
213	Enterobacter	Schk.	SENSIBEL					
215	Enterobacter	Schk.	CR PN	II				
216	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
217	Enterobacter	Schk.	CR	I				
218	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
219	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
220	Enterobacter	Schk.	CR	I	+	-		
221	Enterobacter	Schk.	CR PN	II				
222	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
223	Enterobacter	Schk.	CR G	II				
224	Enterobacter	Tst.	G	I				
225	Enterobacter	Tst.	TE	I			+	TE
226	Enterobacter	Tst.	TE S	II				
227	Enterobacter	Hack	TE CR	II				
228	Enterobacter	Hack	TE S	II				
229	Enterobacter	Hack	TE S	II				
230	Enterobacter	Hack	TE S	II			+	TE S
231	Enterobacter	Hack	SENSIBEL					
232	Enterobacter	Hack	TE	I				

Tabelle 27

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
233	Enterobacter	Hack	TE CR G	III				
234	Enterobacter	Hack	TE	I				
235	Enterobacter	Hack	TE S	II			+	S
236	Enterobacter	Hack	G	I				
237	Enterobacter	Hack	TE G	II				
238	Enterobacter	Hack	SENSIBEL					
239	Enterobacter	Hack	SENSIBEL					
240	Enterobacter	Sta.	SENSIBEL					
241	Enterobacter	Gefl.	PN	I				
242	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
243	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
244	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
245	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
246	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
247	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
248	Enterobacter	Gefl.	SENSIBEL					
249	Enterobacter	Sta.	CR PN	II				
300	Hafnia	Schk.	TE	I				
301	Hafnia	Schk.	TE	I	+	-		
302	Hafnia	Schk.	TE S G	III			+	TE
303	Hafnia	Schk.	CR G	II				
304	Hafnia	Schk.	TE	I				
305	Hafnia	Tst.	CR	I				
306	Hafnia	Tst.	TE	I			+	TE
307	Hafnia	Tst.	SENSIBEL					
208	Hafnia	Tst.	SENSIBEL					
309	Hafnia	Tst.	SENSIBEL					
310	Hafnia	Hack	SENSIBEL					
311	Hafnia	Hack	TE	I				
312	Hafnia	Hack	CR	I				
313	Hafnia	Hack	TE	I				
314	Hafnia	Hack	TE	I	+	-		

Tabelle 28

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
315	Hafnia	Hack	CR G	II				
316	Hafnia	Hack	TE S	II				
317	Hafnia	Hack	S	I			+	S
318	Hafnia	Hack	TE S	II			+	TE S
319	Hafnia	Gefl.	SENSIBEL					
320	Hafnia	Gefl.	SENSIBEL					
321	Hafnia	Gefl.	CR G CT	III				
322	Hafnia	Gefl.	SENSIBEL					
323	Hafnia	Sta.	CR	I				
400	Proteus	Schk.	CR CT PN FR	IV				
401	Proteus	Schk.	CR CT PN FR	IV				
402	Proteus	Schk.	TE CR CT PN FR	V				
403	Proteus	Schk.	TE CT PN FR	IV				
404	Proteus	Schk.	CR G CT FR	IV				
405	Proteus	Schk.	CR G CT	III				
406	Proteus	Schk.	TE CR GCT PN	V	+	-		
407	Proteus	Schk.	TE CR CT	III				
408	Proteus	Schk.	CR	I				
409	Proteus	Schk.	TE S CR GCT	V	+	+	+	TE S
410	Proteus	Schk.	TE CT FR	III	+	-		
411	Proteus	Schk.	TE CT FR	III				
412	Proteus	Schk.	TE CR CT	III				
413	Proteus	Schk.	SENSIBEL					
414	Proteus	Schk.	TE PN	II				
415	Proteus	Tst.	TE	I				
500	Citrobacter	Schk.	S CR	II				
501	Citrobacter	Schk.	TE S G	III	+	-		
502	Citrobacter	Schk.	S CR G	III				
503	Citrobacter	Tst.	TE S CR G	IV				
504	Citrobacter	Tst.	TE S K	III				
505	Citrobacter	Tst.	S CR	II				

Tabelle 29

Stamm Nr.	Species	Quelle	Resistenzspektrum*	Anzahl d. R-Determinanten	Col-Bildung	Col-Plasmide	R-Plasmide	Resistenzspektrum des Akzeptors**
506	Citrobacter	Hack	G K	II	+	-		
507	Citrobacter	Hack	CR	I				
508	Citrobacter	Hack	CR G	II				
509	Citrobacter	Hack	CR G	II				
510	Citrobacter	Sta.	TE CT	II				
511	Citrobacter	Gefl.	CR	I				
512	Citrobacter	Gefl.	K	I				
513	Citrobacter	Gefl.	K	I				
514	Citrobacter	Gefl.	CR	I				
600	Salmonella	Schk.	SENSIBEL					
601	Salmonella	Schk.	TE	I				
602	Salmonella	Sta.	SENSIBEL					
603	Salmonella	Sta.	SENSIBEL					
604	Salmonella	Sta.	TE	I				
605	Salmonella	Sta,	TE S G PN PY	V			+	S PN
606	Salmonella	Sta.	TE S	II			+	TE S
607	Salmonella	Sta.	SENSIBEL					
608	Salmonella	Sta.	SENSIBEL					
609	Salmonella	Sta.	S G K PN PY C	VI			+	S C PN K
610	Salmonella	Sta.	TE S	II			+	TE S
611	Salmonella	Sta.	SENSIBEL					
612	Salmonella	Gefl.	SENSIBEL					
613	Salmonella	Gefl.	SENSIBEL					
700	Serratia	Tst.	TE S CR PN	IV	+	-		
701	Serratia	Hack	TE S CR PN	IV	+	-		
702	Serratia	Hack	TE S CR	III	+	-		
703	Serratia	Hack	S CR PN	III	+	-		
704	Serratia	Hack	SENSIBEL					
705	Serratia	Hack	SENSIBEL					
706	Serratia	Gefl.	SENSIBEL					

H. Literaturverzeichnis

Aden, D.P., Reed, N.O., Underdahl, N.R. und Melus, C.A.

Transferable drug resistance among Enterobacteriaceae isolated from cases of neonatal diarrhea in calves and piglets

Appl. Microbiol. 18, 961-964 (1969)

Akiba, T. Mechanism of development of resistance in Shigella medicine of Japan in 1959 (in Japanese)
Proc. 15th Gen. Meeting of the Japan. Med. Assoc. 5, 299-305 (1959)

zit. nach Watanabe, T. (1963)

Akiba, T., Koyoma, K., Isshuki, T. und Fukasawa, T.

Studies on the mechanism of development of multidrug resistant Shigella strains (in Japanese)

Nippon Iji Shimpo 1866, 46-50 (1960)
zit. nach Sugino, Y. et al. (1962)

Akiba, T. und Iwahara, S.

Studies on the mechanism of transfer of drug resistance in bacteria
IX. Influence of temperature and pH on resistance transfer (in Japanese)

Medicine and Biology 60, 42-44 (1961)
zit. nach Mutsuhashi, S. (1971)

Akiba, T., Koyoma, K., Kimura, S. und Fukushima, T.

Studies on the mechanism of transfer of drug resistance in bacteria VIII. Experiments on the transfer of drug resistance in vivo (in Japanese)

Medicine and Biology 59, 185-188 (1961) zit. nach Watanabe, T. (1963)

Amtsberg, G., Krabisch, P. und Matthiesen, J.

Übersicht über die Ergebnisse von Resistenzprüfungen verschiedener Bakterienarten bzw. -gruppen in der veterinärmedizinischen bakteriologischen Diagnostik

Tierärztl. Umschau 28, 495-500 (1973)

Anderson, E.S. Origin of transferable drug resistance factors in Enterobacteriaceae

Brit. Med. J. 2, 1289-1291 (1965 b)

ders. A rapid screening test for transfer factors in drug sensitive Enterobacteriaceae

Nature 208, 1016-1017 (1965 f)

Anderson, E.S. und Lewis, M.J.

Drug resistance and its transfer in Salmonella typhimurium

Nature 206, 579-583 (1965)

Anderson, E.S. und Perret, D.

Mobilization of transducted tetracycline resistance by the transfer factor in Salmonella typhimurium and Salmonella typhi

Nature 214, 810-811 (1967)

Anderson, T.G. Standardized methods of antimicrobial susceptibility testing

in: Quality control in microbiology edited by Prier, J.E., Bartola, J. und Friedmann, H. University Park Press Baltimore, London, Tokio 1975

Babcock, G.F., Berryhill, D.L. und Marsch, D.H.

R-Factors of Escherichia coli from dressed beef and humans

Appl. Bact. 25, 21-23 (1973)

Bergmann, D. und Wiedemann, B.

Die Abhängigkeit der R-Faktorübertragung von der Wachstumsphase der Donatorbakterien bei E. coli K12

Zbl. Bakt. I. Orig. 223, 303-307 (1973)

Berner, H. Untersuchungen über ein neues Kühlverfahren für Schlachtgeflügel

Fleischwirtschaft 49, 1617-1620 (1969)

Bischoff, H. Resistenzüberprüfung von Antibiotika unter besonderer Berücksichtigung des Gentamycins

Münch. med. Wschr. 113, 353-357 (1971)

Bulling, E. Die Ausbreitung antibiotikaresistenter Darmkeime bei Schweinen

Bundesgesundheitsblatt 15, 349-350 (1972)

Bulling, E., Scholz, M. und Malla, D.S.

Die Antibiotikaresistenz von Enterobakteriaceae aus Tiermaterial und Versuche zur Übertragung der Mehrfachresistenz in vitro

Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 81, 151-153 (1968)

Bulling, E. und Stephan, R.

Die Wirkung der Antibiotika Beifütterung in nutritiven Dosen auf die Resistenzentwicklung der coliformen Darmflora bei Schweinen
2. Mitt.: Verbreitung von R-Faktoren durch die nutritive Antibiotika Anwendung

Zbl. Vet. med. B 18, 449-456 (1971)

dies. Die Wirkung der Antibiotika Beifütterung in nutritiven Dosen auf die Resistenzentwicklung der coliformen Darmflora bei Schweinen
3. Mitt.: R-Infektion von Salmonellabakterien in vivo

Zbl. Vet. med. B 19, 268-284 (1972)

Bulling, E., Stephan, R. und Sebek, V.

Die Entwicklung der Antibiotika- Resistenz von Salmonella- Bakterien tierischer Herkunft in BRD einschließlich Berlin (West)

1. Mitt.: Ein Vergleich zwischen 1961 und 1970/71

Zbl. Bakt. I. Orig. 225, 245-256 (1973)

Chaloupecky, V., Calikova, O., Horak, V. und Laznickova, K.
R Factors and Colicins in E. coli strains causing infections of the urinary apparatus
Zbl. bakt. I. Orig. 229, 461-465 (1974)

Cooke, E.M., Shooter, R.A., Breaden, A.L. und O'Farell, S.
Antibiotic sensivity of E. coli isolated from animals, food, hospital patients, and normal people.
Lancet II, 8-10 (1971)

Cooke, E.M., Shooter, R.A., Kumar, P.J. und Rousseau, S.A.
Hospital food as a possible source of E. coli in patients
Lancet II, 436-437 (1970)

Datta, N. Transmissible drug resistance in an epidemic strain of Salmonella typhimurium
J. Hyg. 60, 301-310 (1962)

ders. Infectious drug resistance
Brit. Med. Bull. 21, 254-259 (1965)

Dedeken, L. Die mikrobiologische Beschaffenheit von Hackfleisch
Vlaams diergeneesk. tschr. 36, 216-227 (1967)
ref. in Fleischwirtschaft 49, 1462 (1969)

Dulaney, E.L., Carey, M.J. und Glantz, P.J.
Extrachromosomal drug-resistance in E. coli from diseased animals
J. Amer. Vet. Res. 29, 1067-1072 (1968)

Dulaney, E.L. und Laskin, A.J.

The problems of drug-resistant pathogenic bacteria. Conference by The New York Academy of Sciences Oct. 12-14, 1970

Ann. N.Y. Acad. Sci. 182, 5-415 (1971)

Ehrlich, P. Chemotherapeutische Trypanosomen Studien

Berliner klin. Wschr. 44, 233 (1907)

Falkow, S. und Baron, L.S.

Episomic element in a strain of Salmonella typhosa

J. Bact. 84, 581-589 (1962)

Fein, D., Burton, G., Tsutakawa, R. und Blenden, D.

Matching of antibiotic resistance patterns of E. coli of farm families and their animals

J. Infect. Dis. 130, 274-279 (1974)

Fievez, L. und Granville, A.

Qualité bactériologique de la viande de boeuf crue hacheé

Ann. méd. vét. 113, 358-367 (1969)

Fleming, M.P. Trimethoprim-resistance and its transferabilit in E. coli isolated from calves treated with trimethoprim-sulfadiazine. A two year study

J. Hyg. 71, 669-677 (1973)

Fleming, M.P., Datta, N. und Grüneberg, R.N.

Trimethoprim resistance determined by R-Factors

Brit. Med. J. 1, 726-728 (1972)

Gardner, P., Smith, D.H., Beer, H. und Moellering, R.C.
Recovery of resistance (R) factors from a drug-free community
Lancet II 774-776 (1969)

Gill, F.A. und Hook, E.W.
Salmonella strains with transferable antimicrobial resistance
J. Amer. Med. Assoc. 198, 1267-1269 (1966)

Gillissen, G. und Gillissen, J.
Resistenzbildung bei Mikroorganismen
Erg. Mikrobiol. 33, 128-241 (1960)

Guinee, P.A.M. Resistance transfer to the resident intestinal E. coli of rats
J. Bact. 102, 291-292 (1970)

ders. in Bacterial Plasmids and antibiotic resistance. First international Symposium. Infectious antibiotic resistance, 1971
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1972)

ders. R transfer to Salmonella panama in vitro and in vivo
J. Microbiol. Serol. 31, 314-319 (1965)

Guinee, P.A.M., Frik, J., Ugueto, N.R., van Leeuwen, W.J. und van Kol, F.J.
Resistance-factors in the intestinal Coli flora of veal calves
Tschr. diergeneesk. 97, 705-718 (1972)

Gunther, A.C. und Feary, T.W.

Infectious drug resistance among clinically isolated E. coli

J. Bact. 96, 1556-1561 (1968)

Harada, K., Kameda, M., Suzuki, M. und Mitsuhashi, S.

Drug resistance of enteric bacteria II. Transduction of transmissible drug-resistance (R) factors with phage Epsilon

J. Bact. 86, 1332-1338 (1963)

dies.

Drug resistance of enteric bacteria III. Acquisition of transferability of nontransmissible R (TC) factor in cooperation with F factor and formation of FR (TC)

J. Bact. 88, 1257-1265 (1964)

Hechelmann, H., Bem, Z., Uchida, K. und Leistner, L.

Vorkommen des Tribus Klebsiella bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren

Fleischwirtschaft 54, 1515-1517 (1974)

Hechelmann, H., Rossmanith, E., Peric, M. und Leistner, L.

Untersuchungen zur Ermittlung der Enterobacteriaceae bei Schlachtgeflügel

Fleischwirtschaft 53, 107-113 (1973)

van den Heever, L.W.

Antibiotic resistance and R-factors in E. coli from calves, meat and milk

J. South African Vet. med. Assoc. 43, 71-75 (1972)

Hein, W. und Reis, R.

Trübungsmessungen in der Mikrobiologie mit Hilfe des Elko II.
II. Mitteilung

Zbl. Bakt. I. Orig. 183, 119-128 (1961)

Hirsch, D.C., Burton, C.C. und Blender, R.R.

The effect of tetracycline upon establishment of E. coli of bovine origin in the enteric tract of man

J. appl. Bact. 37, 327-333 (1974)

Höhne, C. Infektiöse Antibiotikaresistenz bei polyresistenten Stämmen von E. coli

Zschr. allg. Mikrobiol. 10, 607-614 (1970)

Howells, C.H.L. und Joynson, D.H.M.

Possible role of animal feedingstuffs in spread of antibiotic-resistant intestinal Coliforms

Lancet I,156-157 (1975)

Hughes, C. und Heynell, G.G.

High frequency of antibiotic-resistant enterobacteria in the river Stour, Kent

Lancet II, 451-453 (1974)

Jawetz, E., Melnick, J.L. und Adelberg, E.A.

Review of medical microbiology
Lange Medical Publications, USA, 1972

Jones, A.M. E. coli in retail samples of milk and their resistance to antibiotics

Lancet 14, 347-350 (1971)

Kabins, S.A. und Cohen, S.

Resistance-transfer factor in Enterobacteriaceae

N. England J. Med. 275, 248-252 (1966)

Kampelmacher, E.H.

Foods of animal origin as a vehicle for transmission of drug-resistant organisms to animals and man

Nat. Acad. Sci. Publ. Nr. 1679, 318-326 (1969)

Kasuya, M. Transfer of drug resistance between enterobacteria induced in the mouse intestine

J. Bact. 88, 322-328 (1964)

Kniewallner, K., Neumeyer, J. und Prändl, O.

Untersuchungen über das Vorkommen von antibiotika- und sulfonamidresistenten Mikroorganismen in Fleisch und Fleischwaren

Wien. tierärztl. Mschr. 62, 329-338 (1975)

Knothe, H., Sietzen, W. und Wiedemann, B.

Ecology of R-Factor bearing E. coli serotypes in the fecal flora of men

8. Internationaler Kongress für Chemotherapie Athen, 8.-14. September 1973

Kontomichalou, P.

Transmissible resistance to eight antibacterial drugs in a strain of E. coli

Path. Microbiol. 30, 185-200 (1967)

Kremery, V. und Janouskova, J.

Mutal relations of colicinogenic factors and resistance determinants in E. coli

Zschr. allg. Mikrobiol. 9, 191-195 (1969)

Lakhotia, R.L., Stephens, J.F. und Harpster, S.

Receptiveness of Salmonella and Arizona strains to R factor from E. coli in vitro

Poultry Sci. 51, 2106-2108 (1972)

Larson, J.L. und Larson, H.E.

Verbreitung und Persistenz von antibiotikaresistenten E. coli in Schweinebeständen bei intermittierender Verwendung von Antibiotika

Nord. Vet. med. 26, 417-429 (1974)
ref. in Landw. Zbl. IV 2o, 1426 (1975)

Lebek, G. Übertragung der Mehrfachresistenz gegen Antibiotika und Chemotherapeutika von E. coli auf andere Spezies gramnegativer Bakterien

Zbl. Bakt. I. Orig. 189, 213-223 (1963)

ders. Die infektiöse bakterielle Antibiotikaresistenz

Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart (1969)

ders. Fragen zur Nomenklatur aus dem Gebiet der extrachromosomalen Vererbung bei Bakterien

Zbl. Bakt. I. Orig. 230, 556-558 (1975)

Lederberg, J. Studies in bacterial genetics

J. Bact. 52, 503 (1946)

Loken, K.J., Wagner, L.W. und Henke, C.L.

Transmissible drug resistance in Enterobacteriaceae isolated from calves given antibiotics

Amer. J. Vet. Res. 32, 1207-1212 (1971)

Luria, S.E. und Delbrück, M.

Mutations of bacteria from virus sensivity to virus resistance

Genetics 28, 491-512 (1943)

Macuch, P., Seckarova, A., Parrakova, E., Krcmery, V. und Vymola, F.

Transfer of tetracycline resistance from E. coli to other Enterobacteriaceae in vitro

Zschr. allg. Mikrobiol. 7, 159-162 (1967)

Manten, A., Guinee, P.A.M. und Kampelmacher, E.H.

An eleven year study of drug resistance in Salmonella in the Netherlands

Bull. Wld. Hlth. Org. 45, 85-93 (1971)

Marsik, F.J. Transmissible drug resistance of E. coli and Salmonella from humans and animals in rural environments

Ph.D.Diss. University of Missouri, Columbia, USA (1973)

Meynell, E. und Datta, N.

Mutant drug resistant factors of high transmissibility

Nature 214, 885-887 (1967)

Meynell, E., Meynell, G.G. und Datta, N.

Phytogenetic relationships of drug resistance factors and other transmissible bacterial plasmids

Bact. Rev. 32, 55-83 (1968)

Mitsuhashi, S. Transmissible drug-resistance factor R

Gunma J. Med. Sci. 14, 169-209 (1965)
zit. nach Mitsuhashi, S. (1971a)

ders. Transferable drug-resistance factor R

University Park Press, Baltimore (1971a)

ders. Epidemiology and genetics of R-factors

Ann. N.Y. Acad. Sci. 182, 141-152 (1971b)

Mitsuhashi, S., Hashimoto, H., Egawa, R., Tanaka, T. und [illegible], Y.

Drug resistance of enteric bacteria IX. Distribution of R-factors in gram-negative bacteria from clinical sources

J. Bact. 93, 1242-1245 (1967)

Mitsuhashi, S., Hashimoto, H. und Suzuki, K.

Drug resistance of enteric bacteria XIII. Distribution of R-factors in E. coli strains isolated from live stock

J. Bact. 94, 1166-1169 (1967)

Moorhouse, E.C.

Transferable drug resistance in Enterobacteriaceae isolated from urban infants

Brit. Med. J. 2, 405-407 (1969)

Moorhouse, E.C. und Mc Kay, L.

Hospital study of transferable drug resistance

Brit. Med. J. 2, 741-742 (1968)

Moorhouse, E.C., O'Grady, M.F. und O'Connor, H.

Isolation from sausages of antibiotic resistant E. coli with R-factors

Lancet 2, 5o-56 (1969)

Novakova, Z., Stykova, S., Kmcmery, V. und Parrakova, E.

Occurence of colicinogenic strains among tetracycline resistant strains of E. coli.

Zschr. allg. Mikrobiol. 9, 399-400 (1969)

Ochiai, K., Yamanaka, T., Kimura, K. und Sawada, O.

Studies on inheritance of drug-resistance between Shigella strains and E. coli strains

Nippon Iji Shimpo 1861, 34 (1959)
zit. nach Sugino, Y. et al. (1962)

van Oye, E. The world problem of Salmonellosis

Dr. W. Junk Publishers, The Hague, 1964

Patsch, R. und Höhne, C.

Simultane Übertragung der Ampicillin- und Carbenicillinresistenz durch R-Plasmide

Zschr. allg. Mikrobiol. 13, 335-339 (1973)

Pietsch, O. und Bulling, E.

Verbreitung der Salmonella-Infektionen bei Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln in der BRD einschließlich Berlin (West), Jahresbericht 1971

Bundesgesundheitsblatt 15, 321-332 (1972)

Precursil, L. .

Survey of infectious multiple drug resistance among Salmonella isolated from animals in the United States

Appl. Microbiol. 21, 359-362 (1971)

Reed, N.D., Sieckmann, D.G. und Georgi, C.E.

Transfer of infectious drug resistance in microbially defined mice

J. Bact. 100, 22-26 (1969)

Reeves, P. The Bacteriocins

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1972)

Reiss, R. und Hein, H.

Trübungsmessungen in der Mikrobiologie mit Hilfe des Elko II

Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 137-151 (1959)

Reploh, H. und Otte, H.J.

Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1961)

Reuter, G. Erfahrungen mit Nährböden für die selektive mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen

Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53-57 u. 84-89 (1968)

Roe, E., Jones, R.J. und Lowbury, E.J.L.

Transfer of antibiotic resistance between Pseudomonas aeruginosa, E. coli and other gram-negative Bacilli in burns

Lancet I, 149-152 (1971)

Roemmele, O., Schaper, G. und van der Wall, G.

Ein praktisches Gerät zur dokumentarischen Feststellung des pH-Wertes, der Durchsaftung und des Blutgehaltes von Fleisch und Fleischwaren

Fleischwirtschaft 13, 208-209 (1961)

Schroeder, S.A., Terrey, M. und Bennett, J.V.

Antibiotic-resistance and transfer factor in Salmonella

J. Amer. Med. Assoc. 205, 903-906 (1968)

Shooter, R.A., Cooke, E.M., Rousseau, S.A. und Breaden, A.L.

Animal sources of common serotypes of E. coli in the food of hospital patients

Lancet II, 226-228 (1970)

Sieckmann, D.G., Reed, N.D. und Georgi, C.E.

Transferable drug resistance among Enterobacteriaceae from human urinary tract infections

Appl. Microbiol. 17, 701-706 (1969)

Smith, D.H. und Armour, S.E.

Transferable R-factors in enteric bacteria causing infection of the genitourinary tract

Lancet II, 15-18 (1966)

Smith, H.W. The incidence of infective drug resistance in strains of E. coli isolated from diseased human beings and domestic animals

J. Hyg. 64, 465-474 (1966)

ders. Antimicrobial drugs in animal feeds

Nature 218, 728-731 (1968)

ders. Transfer of antibiotic resistance from animal and human strains of E. coli to resident E. coli in the alimentary tract of man

Lancet I, 1174-1176 (1969)

ders. Incidence in river water of E. coli containing R factors

Nature 228, 1286-1288 (1970a)

ders. The transfer of antibiotic resistance between strains of Enterobacter in chicken, calves and pigs

J. med. Microbiol. 3, 165-180 (1970b)

ders. Effect of prohibition of the use of tetracyclines in animal feeds on tetracycline resistance of fecal E. coli of pigs

Nature 243, 237-238 (1973)

Smith, H.W. Antibiotic-resistant bacteria in animals: The dangers to human health

Brit. Vet. J. 130, 110-119 (1974a)

ders. Thermosensitive transfer factors in Chloramphenicol-resistant strains of Salmonella typhi

Lancet II, 281-282 (1974b)

Smith, H.W. und Crabb, W.E.

The sensivity to chemotherapeutic agents of a further series of strains of Bacterium coli from cases of white scours: The relationship between sensivity tests and reponse to treatment

Vet. Rec. 68, 274-276 (1957)

Smith, H.W. und Halls, S.

Observations on infective drug resistance in Britain

Brit. Med. J. 1, 266-269 (1966)

Sojka, W.J., Hudson, E.B. und Slavin, G.

A survey of drug resistance in Salmonella isolated from animals in England and Wales during 1971

Brit. Vet. J. 130, 128-137 (1974)

Sojka, W.J., Slavin, G., Brand, T.F. und Davies, G.

A survey of drug resistance in Salmonella isolated from animals in England and Wales

Brit. Vet. J. 128, 189-198 (1972)

Stephan, R. Übertragbare Antibiotikaresistenz bei Salmonellabakterien

Vortrag Berliner Tierärztliche Gesellschaft am 14. Mai 1975

Stephan, R. und Bulling, E.

Das Vorkommen von antibiotikaresistenten coliformen Keimen in der Darmflora von Menschen und verschiedenen Haustieren

Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 84, 45-48 (1971)

Straube, W. Über Antibiotika-Resistenz

Münch. med. Wschr. 109, 1473-1478 (1967)

Sugino, Y. und Hirota, Y.

Conjugal fertility associated with resistance factor R in E. coli

J. Bact. 84, 902-910 (1962)

Suzuki, S., Nakazawa, S. und Ushida, T.

Yearly changes of drug resistance of Shigella strains isolated in Kyoto for 5 years from 1951 (in Japanese)

Chemotherapy 4, 336-338 (1959)
zit. nach Mitsuhashi, S. (1971)

Szybalski, W. und Bryson, V.

Origin of drug resistance in microorganisms in:
Origin of resistance to toxic agents
edited by Sevag, M.G., Reid, R.D. und Reynolds, O.E.
New York Academic Press, 1955

Terawaki, Y., Takayasu, H. und Akiba, T.
Thermosensitive replication of a Kanamycin resistance factor
J. Bact. 94, 687-690 (1967)

Tschäpe, H. und Rische, H.
Die Virulenz-Plasmide der Enterobacteriaceae
Zschr. allg. Mikrobiol. 14, 337-350 (1974a)

dies. Ökologie und epidemiologische Bedeutung der infektiösen Chemotherapeutikaresistenz
Verlag Ambrosius Barth, Leipzig, 1974

Ülgen, M.T. Untersuchungen über das Vorkommen Antibiotika- und Sulfonamidresistenter Enterobacteriaceae auf Schlachttierkörpern und Fleisch von Schweinen in verschiedenen Be- und Verarbeitungsstufen
Vet. med. Diss. FU Berlin 1976

Walter, A.W. und Heilmeyer, L.
Antibiotika Fibel
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1969

Walton, J.R. In vivo transfer of infectious drug resistance
Nature 211, 312-313 (1966a)

ders. Infectious drug resistance in E. coli isolated from healthy farm animals
Lancet II, 1300-1302 (1966b)

Walton, J.R. Contamination of meat carcasses by antibiotic-resistant coliform bacteria
Lancet II, 561-563 (1970)

Walton, J.R. und Fulton, M.
Segregation during transfer of infectious drug resistance in Enterobacteriaceae
Nature 215, 179-180 (1967)

Walton, J.R. und Lewis, L.D.
Contamination of fresh and cooked meats by antibiotic resistant coliforms
Lancet 11, 255-257 (1971)

Washington, L. A study of the interbacterial transfer of drug resistance (R-factor) in the human intestine
Ph. D. Diss. Florida, USA 1972

Watanabe, T. Episome-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae
VI. High-frequency resistance transfer system in E. coli
J. Bact. 85, 788-794 (1963)

ders. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria
Bact. Rev. 27, 87-115 (1963)

Watanabe, T. und Fukasawa, T.
Episome-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae
II. Elimination of resistance factors with acridine dyes
J. Bact. 81, 679-683 (1961)

Watanabe, T. und Fukasawa, T.

Episome-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae
III. Transduction of resistance factors

J. Bact. 82, 202-209 (1961)

Wells, B.W. und James, O.B.

Transmission of infectious drug resistance from animals to man

J. Hyg. 71, 209-215 (1973)

Wiedemann, B. Die Übertragung extrachromosomaler Resistenzfaktoren in der Darmflora und ihre Hemmung

Zbl. Bakt. I. Orig. 220, 106-123 (1972)

ders. Übertragung und Selektion von R-Faktoren in vivo

Drug Res. 23, 91-94 (1973)

Wiedemann, B. und Knothe, H.

Epidemiological investigations of R-factors-bearing enterobacteria in man and animals in Germany. Part VI: Antibiotics and drug resistance in animals

Ann. N.Y. Acad. Sci. 182, 330-382 (1971)

Wright, A.A. Quality control of antibiotic susceptibility discs.
in: Quality control in microbiology edited by Prier, J.E., Bartola, J. und Friedman, M.

University Park Press, Baltimore, London, Tokyo, 1975

Ziebold, P.I. Untersuchungen über das Vorkommen von R-Faktor-tragenden und colicinbildenden Enterobacteriaceae in Futtermitteln

Vet. med. Diss. München 1972

Zinder, N.D. und Lederberg, J.

Genetic exchange in Salmonella

J. Bact. 64, 679-699 (1952)

L e b e n s l a u f

Geboren am 28.3.1949 in Berlin

Reifeprüfung im Februar 1969 in Berlin

Studium der Veterinärmedizin an der FU Berlin seit SS 1969 - Tierärztliche Vorprüfung am 29.4.1971 - Staatsexamen am 22.7.74 - Bestallung am 2o.8.1974

Am Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie -Fachrichtung Fleischhygiene- der FU Berlin seit September 1974 als wissenschaftliche Angestellte beschäftigt.

An dieser Stelle sei meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Gerhard Reuter, für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung gedankt.
Herr Prof. Dr. Bulling und Herr Dr. Stephan vom Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes in Berlin stellten die Prüfstämme zur Verfügung und gewährten wertvolle Ratschläge.
Fr. A. Klauser von der Fachrichtung Fleischhygiene der FU Berlin war bei der technischen Durchführung der Untersuchungen beteiligt.

Ihnen allen und den Mitarbeitern der Fachrichtung Fleischhygiene sei vielmals gedankt.

Die experimentellen Untersuchungen wurden im Rahmen eines vom Bundesministerium für Jugend, Familie und Gesundheit geförderten Forschungsvorhabens durchgeführt.